Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

W. RUHLAND UNTERDEUFSTETTEN **L. BRAUNER** MÜNCHEN **E. BÜNNING** TÜBINGEN

51. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT

MIT 99 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 4. JULI 1958)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1958

Planta (Berl.)

Preis DM 29.80

Planta, Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*.

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 13 01 31
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2 79 01

51. Band **Inhaltsverzeichnis** 6. (Schluß-)Heft

Seite

GRILL, R., Blattentwicklung von Trichocolea tomentella (EHRH.) DUM. Mit 32 Textabbildungen 673

REZNIK, H., Vergleich einer weißen Mutante von Neottia nidus-avis (L.) L. C. RICH. mit der braunen Normalform. Eine physiologisch-anatomische Studie. Mit 5 Textabbildungen 694

LIETH, H., Grenzen und Anwendungsmöglichkeiten der colorimetrischen CO_2-Bestimmung. Mit 6 Textabbildungen 705

MICHAELIS, P., Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. II. Teil. Mit 16 Textabbildungen 722

PALMER, J. H., and G. F. ASPREY, Studies in the nyctinastic movement of the leaf pinnae of Samanea saman (JACQ.) Merrill. I. A general description of the effect of light on the nyctinastic rhythm. With 9 Figures in the Text . . . 757

PALMER, J. H., and G. F. ASPREY, Studies in the nyctinastic movement of the leaf pinnae of Samanea saman (JACQ.) Merrill. II. The behaviour of upper and lower half-pulvini. With 9 Figures in the Text 770

RENNER, O., und J. MUSKAT, Über zwei neue Arten von Absidia aus Tunesien, A. parricida und A. tuneta. Mit 22 Textabbildungen 786

Berichtigung zur Arbeit H. LINSER, O. KIERMAYER und R. JAROSCH „Zur Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. II. Formbildende Wirkungen verschiedener Stoffe bei Trifolium pratense", **50**, 238—249 (1957) 802

Autorenverzeichnis 803

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 51, S. 673—693 (1958)

Aus dem Institut für angewandte Botanik Tübingen

BLATTENTWICKLUNG VON TRICHOCOLEA TOMENTELLA (EHRH.) DUM.*

Von

RENATE GRILL

Mit 32 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. Februar 1958)

I. Einleitung

Trichocolea tomentella, ein folioses Lebermoos, hat mehrere Eigentümlichkeiten in der Blattgestaltung. So sind ihre Blätter in reichverzweigte Zellfäden gegliedert, was sich im Namen ausdrückt. Ferner sind sie vierlappig bzw. doppelt dichotom. Schließlich stellte sich als Besonderheit auch ein merkwürdiges Zusammenspiel von Scheitelwachstum und interkalarem Wachstum während ihrer Entwicklung heraus.

Trotz dieser auffälligen Gestaltung ist *Trichocolea* morphologisch verhältnismäßig wenig untersucht. Unsere Kenntnisse über dieses Lebermoos gehen fast ausschließlich auf LEITGEBS „Untersuchungen über die Lebermoose" (1874) zurück.

HOFMEISTER hat in seinen vergleichenden Untersuchungen (1851) die „Ermittelung der Regel der Zellvermehrung im fortwachsenden Ende des Stengels entwickelter Jungermannieen" als „eine der schwierigsten Aufgaben" bezeichnet. Bei *Trichocolea* sind die Schwierigkeiten dadurch besonders groß, daß die vierlappigen und in Fäden aufgelösten Blätter (Abb. 22) den Einblick in die Knospe außerordentlich erschweren. Es ergeben sich insbesondere folgende Probleme:

1. Wachstumszonen. Das Wachstum der Lebermoosblätter (Seitenblätter und Amphigastrien) beginnt ebenso wie bei den Laubmoosen mit einem Spitzenwachstum mittels einer Scheitelzelle, welche sich meist durch Querwände teilt. Die Anzahl der Teilungen der Scheitelzelle ist sehr unterschiedlich. Selten (vgl. HOFMEISTER), z.B. bei *Fossombronia*, sind es sehr wenige oder bei *Haplomitrium* sogar nur eine einzige. Nach Erlöschen der Scheitelzellfunktion setzt eine starke Zellvermehrung an der Basis ein, durch welche das Blatt seine endgültige Form erhält.

Vereinzelt, z.B. von DOUIN wurde die Auffassung vertreten, Laub- und Lebermoosblätter entwickelten sich von ihrer Basis her. Als

* Dissertation Mathematisch-naturwissenschaftliche Fakultät Tübingen 1957. Die folgenden Untersuchungen wurden mit von der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Verfügung gestellten Apparaten durchgeführt. Es sei an dieser Stelle dafür gedankt.

Begründung dafür wurde fast ausschließlich das Zellnetz angeführt: Nur durch ein basales Meristem sollte es sich erklären lassen, daß sich die normal großen Zellen an der Blattspitze, kleinere Zellen aber an der Basis befinden. Ein Blatt z.B. von *Cephaloziella* soll sich in der Weise entwickeln, daß sich die beiden Außenzellen des Segmentes als Basalinitialen unabhängig voneinander vorwölben und durch Teilungen zwei getrennte Lappen liefern. Nach Beendigung des Stengelwachstums bilden diese Basalinitialen dann eine gemeinsame Basis.

2. Lappenbildung. Sie ist eigentlich nur von flächigen Blättern bekannt. Bei den Seitenblättern der foliosen Lebermoose *(Jungermanniales acrogynae)*[1] wird schon durch die erste Teilung das junge Segment in „Ober"- und „Unterlappen" differenziert. Meist ist diese Unterteilung auch am fertigen Blatt deutlich erkennbar (z.B. *Radula*, *Lejeunea*). Wenn im „Unterlappen" noch eine weitere Teilung erfolgt, entstehen dreilappige Blätter, z.B. *Frullania*, *Mastigobrym*, *Lepidozia*, wobei jeder der drei Lappen selbständig weiterwächst.

Bei *Trichocolea* teilen sich beide Lappen, so daß ein vierlappiges Blatt entsteht, wie einleitend erwähnt und unten gezeigt werden soll. Lassen sich solche ungeteilte, 2-, 3- und 4-lappige Blätter homologisieren und wie?

Zur Klärung dieser auffälligen Abweichungen, die an Algengestalten anklingen, sollte möglichst genau der Prozeß der ontogenetischen Blattbildung bei *Trichocolea* verfolgt werden.

II. Methoden

Für die Untersuchungen der jüngsten Stadien der Blätter wurde immer frisches Material verwendet, das sich ohne besondere Pflege etwa 8 Tage in Blechgefäßen hielt. Im Gewächshaus eingetopfte Pflanzen gediehen zwar dem makroskopischen Aussehen nach gut, aber für Untersuchungen der meristematischen Gewebe waren sie nicht geeignet, da die Zellwände (wahrscheinlich durch Verquellung) verschwommen erschienen. Zur Lebenduntersuchung wurden die Zweigenden mit fein zugespitzten Insektennadeln unter dem Binokular zerzupft oder mit Holundermark geschnitten. Außerdem wurde in Bouinscher Lösung fixiertes Material in Paraffin eingebettet und nach dem Schneiden mit Bismarckbraun angefärbt.

III. Sproßwachstum von Trichocolea tomentella

1. Der Gesamtaufbau. Der Hauptsproß wächst, scheinbar unbegrenzt, durch die Tätigkeit einer dreiseitig pyramidalen Scheitelzelle, welche eine ihrer Flächen dem Substrat zukehrt. Dadurch wird das Stämmchen dorsiventral.

Die drei Segmente, die, dem Laufe einer Rechtsspirale folgend, von der Scheitelzelle abgegeben werden, bilden 3 Längsreihen von Blättern aus. Das dem Substrat zugekehrte „*Ventralsegment*" bildet eine Reihe von „Unterblättern" („Amphigastrien"). Diese sind ziemlich symmetrisch gebaut. Die übrigen beiden Segmente („*Dorsalsegmente*"), welche am

[1] *Haplomitrium* macht eine Ausnahme.

Rücken des Stämmchens zusammenneigen, bilden 2 Reihen von mehr unsymmetrisch gebauten „Seitenblättern".

Zur Verstärkung des Assimilationsapparates und zum Festhalten von Wasser dient ein dichter Filz von Paraphyllien auf der Dorsalseite des Sprosses.

Nach meist 3 aufeinanderfolgenden Seitenblättern wird ein Seitenzweig begrenzten Wachstums gebildet, der seinerseits wieder schwächere Tochtersprosse trägt (vgl. Abb. 12). Da dieser aus einem halben seitlichen Segment hervorgeht, und zwar aus dessen ventraler Hälfte, ist die Blattbildung gestört. An der Basis des Seitensprosses auf der Dorsalseite des Hauptsprosses findet man das aus der anderen Segmenthälfte hervorgegangene halbe Seitenblatt bzw. seinen Oberlappen.

In bezug auf die Lage der Insertionsebene und auf die Blattdeckung (vgl. Abb. 1) nimmt *Trichocolea* eine Sonderstellung ein. Bekanntlich unterscheidet man bei den beblätterten Lebermoosen eine unter- und oberschlächtige Blattdeckung. Bei unterschlächtiger Deckung ist der von der Sproßspitze abgekehrte Rand des Blattes (sein Hinterrand), bei oberschlächtiger der der Sproßspitze zugekehrte (sein Vorderrand), frei. Außerdem ist die Lage der Blatt-Insertionsebene verschieden. Bei unterschlächtiger Blattdeckung bleiben die akroskopen Segmenträndер, welche der Blattinsertion entsprechen, an der Dorsalseite gegenüber der Ventralseite zurück. Bei oberschlächtiger Blattdeckung ist es umgekehrt.

Bei *Trichocolea* ist der Vorderrand frei, was oberschlächtiger Deckung entsprechen würde; die Blattinsertionsebene ist aber gerade auf der Dorsalseite nach der Basis zu verschoben, wie bei unterschlächtiger Deckung.

2. Die Blattbildung. *a) Die Scheitelzelle und die aus ihr hervorgehenden Segmente.* Die Teilungen verlaufen im Ventralsegment und in den Dorsalsegmenten nach einem etwas verschiedenen Modus. Die Abb. 4 stellt schematisch vereinfacht diesen Teilungsablauf dar; die aufeinanderfolgenden Teilungswände sind durch Zahlen charakterisiert. Jedes Segment gleicht einem Dreieck, wobei die gebogene Seite die freie Außenfläche an der Scheitelzelle wiedergibt und dann auch die spätere Insertionsebene des Blattes darstellt.

Das *ventrale Segment* wird zunächst durch eine Periklinalwand (in Abb. 4 mit 1 gekennzeichnet) in eine dreiseitige Innenzelle und in eine Außenzelle geteilt. Durch eine Antiklinalwand (mit 2 in Abb. 4 gekennzeichnet) wird letztere später in 2 gleich große Zellen zerlegt. Diese wachsen zu dem aus 2 Hauptlappen bestehenden Amphigastrium aus (Abb. 5).

Die *beiden Dorsalsegmente* liefern die beiden Seitenblätter (Abb. 2). In den Dorsalsegmenten verläuft die erste Teilungswand (1 in Abb. 4) von der Mitte der freien Außenfläche in sanftem Bogen, bis sie an der

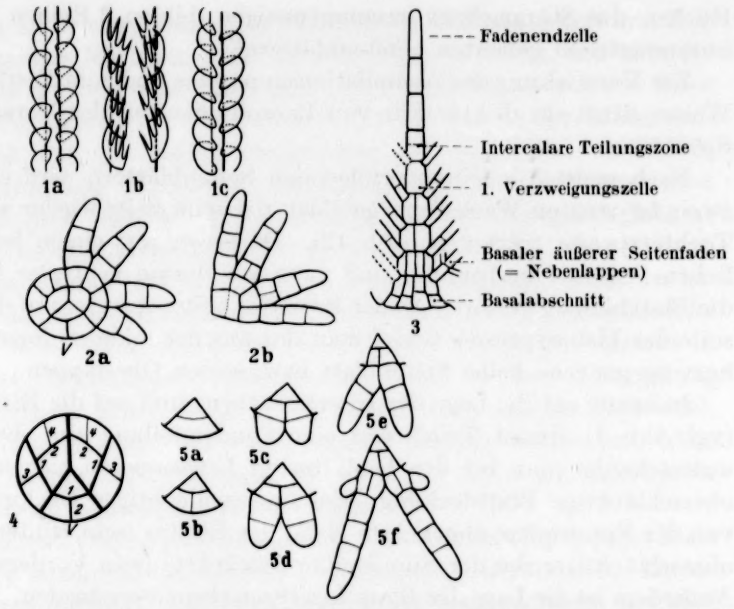


Abb. 1—5. Blattgestaltung bei den Lebermoosen. (2—5 *Trichocolea*)

Abb. 1a—c. Blattdeckung der Lebermoose, Sprosse von der Dorsalseite (a oberschlächtig; b *Trichocolea*-Typ; c unterschlächtig). (Schema)

Abb. 2a u. b. Erste Teilungen des jungen Seitenblattes (halbschematisch)

Abb. 3. Hauptfaden nach Beendigung des Spitzenwachstums (Schema); im Basalabschnitt Teilungen angedeutet. Weitere mögliche Seitenfäden punktiert

Abb. 4. Teilungsmodus in den Segmenten (Schema)

Abb. 5a—f. Amphigastrium mit ersten Teilungen (halbschematisch) bis zum Dreizell-Stadium der Hauptfäden (e) und zum Fünfzell-Stadium mit Seitenfadenbildung (f)

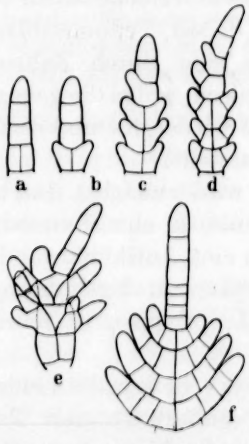


Abb. 6. Teilungsfolge in den Hauptfäden (halbschematisch)

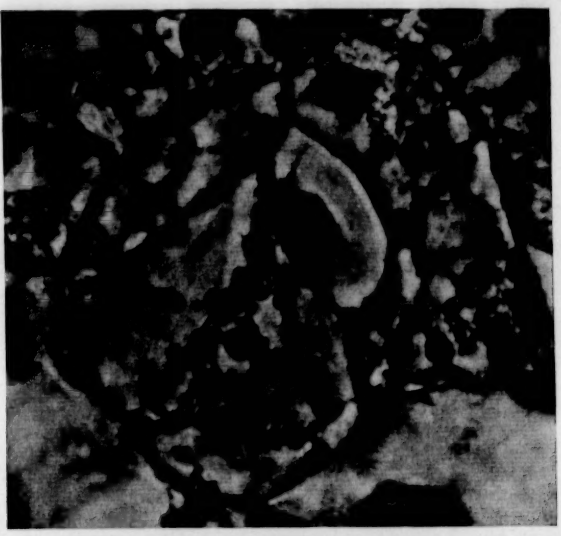


Abb. 7—11. Sproßspitze von *Trichocolea*. (Schnittserie: Abb. 7 höchster, Abb. 11 tiefster Schnitt)

Abb. 7. Scheitelzelle schräg längs; rechts und links je 3 aufeinanderfolgende Dorsalsegmente. 1380/1

Abb. 8. Ventralsegment mit schon beginnender Dichotomie. 1380/1

Seitenwand des ventralen Segments ansetzt. Dadurch wird das Dorsalsegment in 2 ungleiche Längshälften zerlegt. Die größere der so entstandenen Zellen wird durch eine zweite Wand (2 in Abb. 4) in eine innere und in eine äußere Zelle geteilt. Hier entstehen also nach dem zweiten

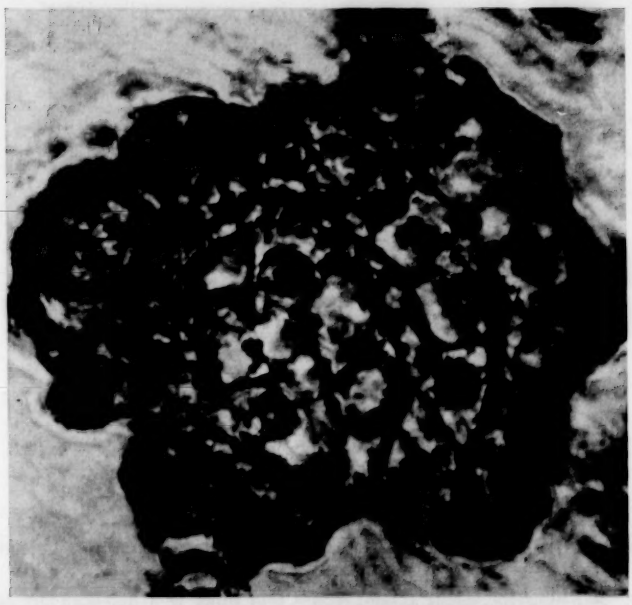


Abb. 9. Am Ventralsegment beginnen die beiden Basalzellen auszuwachsen. 720/1

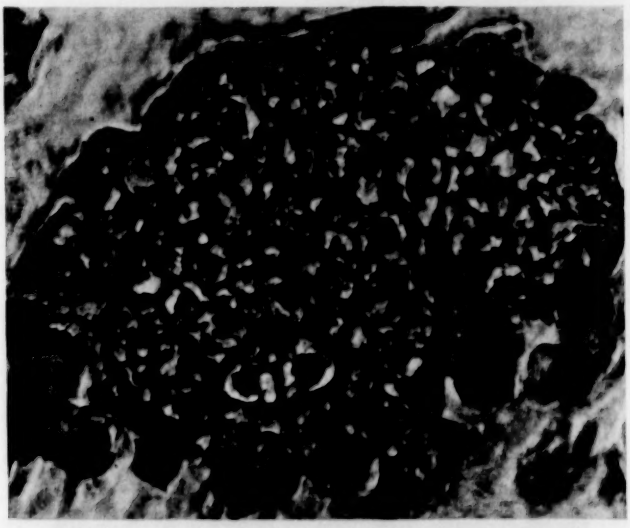


Abb. 10. Vermehrte Zellteilung der Basalsegmente; darin drückt sich das gesteigerte Wachstum der Dorsalseite aus; links ein Seitenblatt angeschnitten. Segmentgrenzen nachgezeichnet. 840/1

Teilungsschritt ebenfalls (wenn auch in veränderter Reihenfolge) eine Innen- und zwei Außenzellen. Jede der beiden Außenzellen wird dann jedoch (im Gegensatz zum Teilungsmodus des Ventralsegments) nochmals antiklinal geteilt. Damit sind 4 Außenzellen entstanden, aus welchen

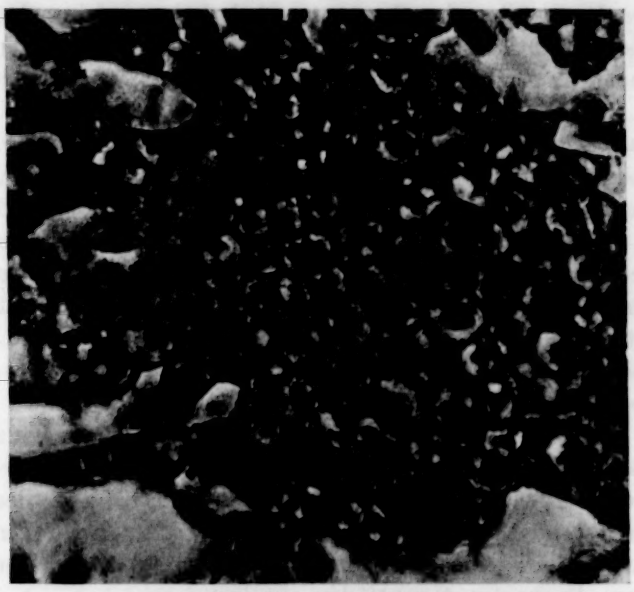


Abb. 11. Wie Abb. 10

Abb. 12. Sproßende von *Trichocolea*. 27/1

das vierlappige Seitenblatt hervorgeht. In dieser stärkeren Zellteilung der Dorsalsegmente drückt sich das gesteigerte Wachstum der Dorsalseite aus, das dem plagiotropen Wuchs von *Trichocolea* entspricht.

In den Innenzellen der Segmente wiederholen aufeinanderfolgende periklinale und antiklinale Teilungen den Teilungsmodus bei Sonderung der Segmente in Innen- und Außenzellen (vgl. das Schema Abb. 4 mit den Abb. 8—10).

b) Entwicklung der Amphigastrien. Wenn man ein ausgewachsenes Amphigastrium betrachtet (Abb. 22), erkennt man einen geschlossenen Basalabschnitt und, ihm aufsitzend, die beiden einigermaßen dichotom geteilten fädigen Abschnitte. Man kann somit drei Teile des Blattes unterscheiden, die aus den beiden Außenzellen des Ventralsegmentes hervorgehen. Schon durch die erste antiklinale Teilung wird die Zweilappigkeit des Blattes festgelegt (Abb. 5b).

Die beiden Außenzellen wachsen zunächst zu zwei selbständigen Fäden (= Hauptfäden) aus (Abb. 5c—f).

Jeder Faden wird durch eine erste Querwand in eine Apikalzelle und eine Basalzelle geteilt (Abb. 5d), wobei die Basalzellen beider Fäden bis über die Hälfte miteinander verwachsen bleiben. Aus diesem verwachsenen Teil entwickelt sich durch Längs- und Querteilungen der geschlossene Basalabschnitt der einschichtigen Blattfläche. Der Punkt, an welchem die beiden Hauptfäden auseinanderweichen, ist auch am fertigen Blatt (Abb. 22) als deutliche Bucht zwischen den beiden Hauptlappen zu erkennen.

Die fädigen Abschnitte beginnen ihre Entwicklung damit, daß die Hauptfäden zunächst unter Querteilungen der Apikalzelle in die Länge wachsen. Vermutlich liegt hier ein Scheitelwachstum vor, da die Apikalzelle durchschnittlich fast doppelt so lang ist wie die folgende Zelle (vgl. Tabelle 1). Wenn jeder Faden vierzellig geworden ist, setzt in den basalen

Tabelle 1. *Zellenmittelwerte embryonaler Fäden (in μ)*

	Mittelwert	Mittlerer Fehler	Maximalwert	Minimalwert
Fadenendzelle	18,62	3,78	30,00	10,00
2. Zelle . . .	10,88	2,46	19,25	6,50
3. Zelle . . .	13,18	2,59	25,00	10,00

Zellen die Längsteilung ein, die sich dann akropetal in den vier anschließenden Zellen fortsetzt (Abb. 6a—d). Jede der beiden durch eine Längsteilung entstandenen Zellen kann nun am apikalen Ende seitlich wieder zu einem Faden (= Seitenfaden) auswachsen (Abb. 6). Dabei werden Wachstums- und Teilungsachse des neuen Fadens nur um etwa 45° gegenüber der Hauptfadenachse gedreht.

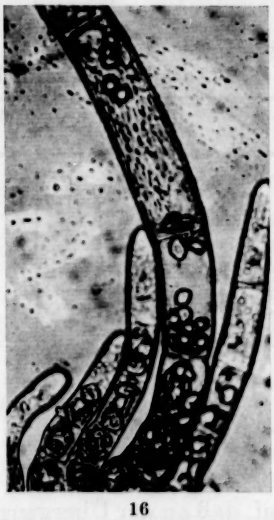
Besonders kräftig entwickelt sich dabei jeweils der basale äußere Seitenfaden, so daß auch das ganze Amphigastrium im fertig ausgewachsenen Zustand fast doppelt dichotom aussieht, ohne daß es seiner Anlage nach doppelt dichotom ist. Jeder Hauptfaden besteht also ur-

sprünglich aus vier längsgeteilten Zellen mit Seitenfäden, die ihrerseits wieder Seitenfäden zweiter Ordnung tragen können. Diese Seitenfäden be-

13

14

15



16

Abb. 13—16. Hauptfadenentwicklung von *Trichocolea*

Abb. 13. Apikalzelle stellt Spitzenwachstum ein und geht zum Streckungswachstum über. 1080/1

Abb. 14 und 15. Interkalare Wachstumszone ein- und zweizellig. 810/1

Abb. 16. Herausbildung der warzigen Oberflächenstruktur in der Streckungszone. 225/1

stehen ebenfalls aus einer kaum geteilten basalen Zelle mit meist nur einem Seitenfaden dritter Ordnung und drei bis fünf (meist vier) Endzellen.

Nachdem die Apikalzelle des Fadens durch sieben bis acht Querteilungen einen acht bis neun Zellen langen Faden gebildet hat, stellt sie ihre meristematische Tätigkeit ein und beginnt sich zu strecken (Abb. 13 bis 15). Auch hier wieder ein Beispiel, daß die Streckung in demselben Grade ansteigt, wie die Teilungsintensität mit zunehmendem Alter abnimmt. Der Plasmazustand, der eine hohe Streckungsgeschwindigkeit ermöglicht, erlaubt meist nur eine geringe Teilungsintensität.

Bei der Messung der Zellängen in jungen Fadenenden ergaben die Mittelwerte, abgesehen von der Fadenendzelle, im allgemeinen etwa die gleichen Größen (vgl. Tabelle 2, Abb. 13). An ca. 20% der untersuchten

Tabelle 2. *Längenverhältnisse bei Fäden ohne interkalare Teilungszone* (Angaben in Teilstrichen, 1 Teilstrich = 36 μ)

	Mittelwert	Mittlerer Fehler	Maximalwert	Minimalwert
Fadenendzelle	0,86	0,23	1,70	0,50
2. Zelle . . .	0,56	0,10	0,90	0,35
3. Zelle . . .	0,56	0,10	1,00	0,30
4. Zelle . . .	0,54	0,07	0,70	0,35
Verzweigungszelle . . .	0,50	0,04	0,65	0,40

Tabelle 3. *Längenverhältnisse bei Fäden mit interkalarer Teilungszone* (Angaben in Teilstrichen, 1 Teilstrich = 36 μ)

	Mittelwert	Mittlerer Fehler	Maximalwert	Minimalwert
a) Interkalare Teilungszone einzellig (4., 5. Zelle)				
Fadenendzelle	1,26	0,37	3,30	0,60
2. Zelle . . .	0,81	0,19	1,90	0,40
3. Zelle . . .	0,79	0,14	1,70	0,50
4. Zelle . . .	0,40	0,07	0,75	0,25
5. Zelle . . .	0,38	0,07	0,70	0,20
Verzweigungszelle . . .	0,59	0,08	1,30	0,40
b) Interkalare Teilungszone zweizellig (4., 5. u. 6., 7. Zelle)				
6. Zelle . . .	0,33	0,05	0,60	0,25
7. Zelle . . .	0,34	0,08	0,40	0,30

Fäden fiel auf, daß an der Übergangsstelle vom ungeteilten Faden zu den sich verzweigenden Zellen die Zellänge einzelner Zellen erheblich geringer war als bei den übrigen Fadenzellen. Diese Zellen mußten vor kurzem durch Teilung der 4. Fadenzelle hervorgegangen sein. Demnach liegt hier eine interkalare meristematische Teilungszone vor (vgl. Tabelle 3, Abb. 6f, 3, 14, 15). Bei 2,8% der Fäden fanden sich Fadenenden mit 4. und 5. quergeschnittener Zelle (Abb. 15) und bei 0,5% der Fäden fanden sich dreizellige Fadenenden mit der 3. Zelle quergeteilt.

Eine solche Zone des interkalaren Wachstums tritt vermehrt auf in den Fäden der Seitenblattoberlappen. Hierin scheint sich wieder das gesteigerte Wachstum der Dorsalseite bemerkbar zu machen. Ohne den Vergleich näher auszuführen, sei hier auf andere Fälle interkalarer

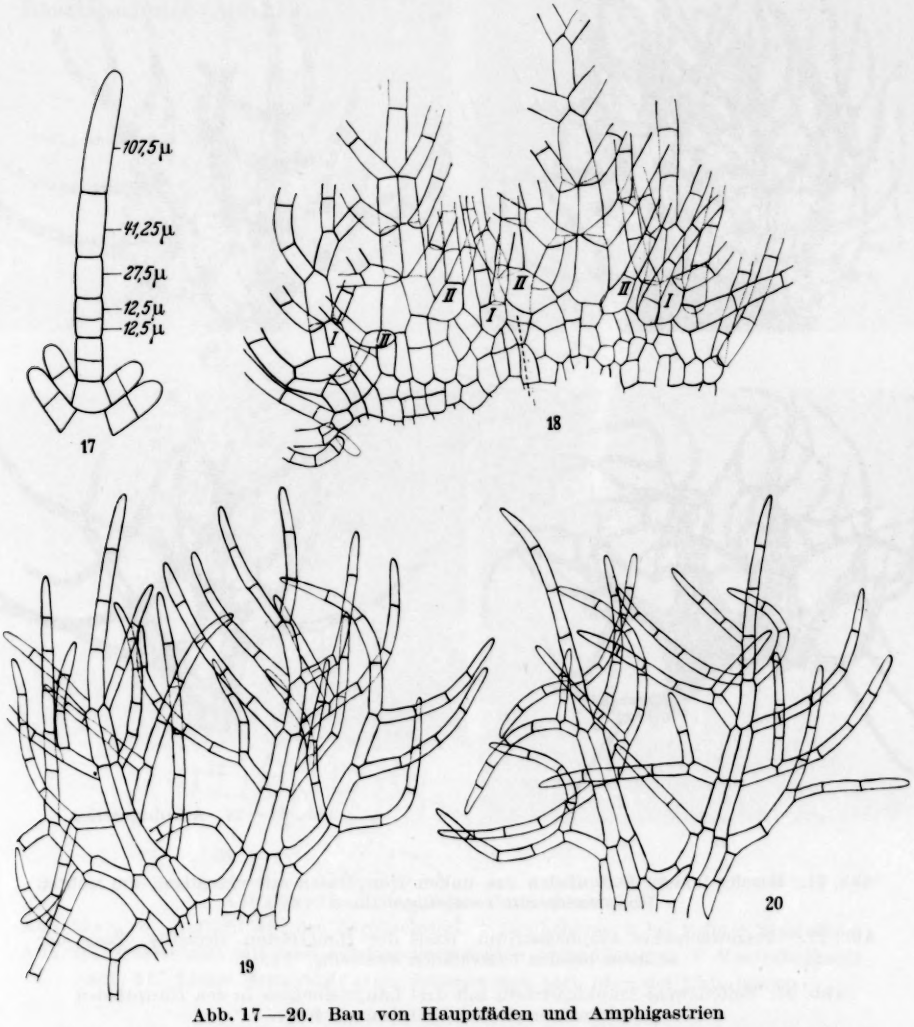


Abb. 17—20. Bau von Hauptfäden und Amphigastrien

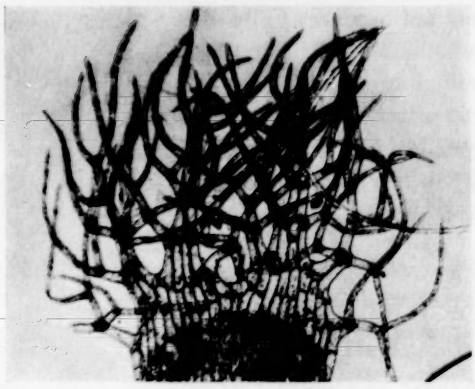
Abb. 17. Zellängen-Vergleich: sich streckende Zellen am Fadenende, und sich teilende Zellen an der Basis des ungeteilten Fadenabschnittes (halbschematisch)

Abb. 18. Junges Amphigastrium. *I* Seitenfäden der Basalzellen; *II* Seitenfäden der darauffolgenden Zellen. Die gestrichelte Linie bezeichnet die Naht der „kongenitalen" Verwachsung der Basalzelle, an der später die Hauptbucht des Blattes entsteht; Basalabschnitt noch in Teilung

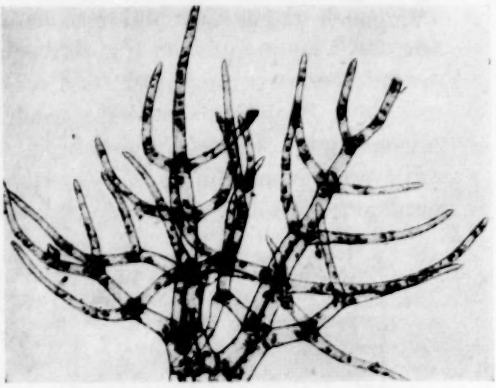
Abb. 19. Reduktion der Nebenlappen eines Seitenzweig-Amphigastriums (halbschematisch)

Abb. 20. Die Nebenlappen dieses Seitenzweig-Amphigastriums unterscheiden sich nic mehr von den übrigen Seitenfäden (halbschematisch)

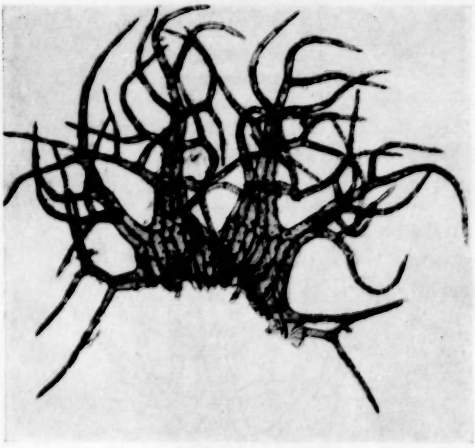
Meristeme verwiesen, z. B. auf das trichothallische Wachstum der Phaeophyceen, sowie auf die neuerlichen Feststellungen (vgl. BUVAT, CAME-



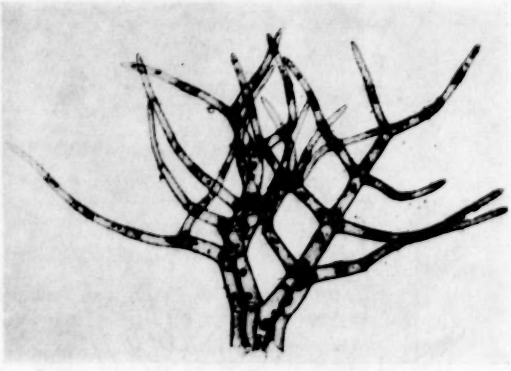
21



23



22



24

Abb. 21—24. Amphigastrien

Abb. 21. Basaler innerer Seitenfaden am linken Hauptfaden mit einzelliger, am rechten Hauptfaden mit zweizelliger Basis. 128/1

Abb. 22. Ausgewachsenes Amphigastrium. Basis der Hauptfäden vierzellig, Basis der äußeren basalen Seitenfäden zweizellig. 113/1

Abb. 23. Seitenzweig-Amphigastrium mit drei Längsteilungen in den Hauptfäden, Seitenfäden 1. und 2. Ordnung. 203/1

Abb. 24. Reduktion der Blattbasis auf nur vier Zellen und auf eine Längsteilung in den Hauptfäden. 203/1

FORT u. a.), daß auch bei Samenpflanzen der Scheitel des Vegetationspunktes sich weniger teilt als eine Meristemzone unterhalb.

Während des Streckungswachstums werden die Ölkörper (welche, zunächst noch länglich und unregelmäßig geformt, die Zellen fast ganz

ausfüllen) in kleinere und mehr isolierte rundliche Kugeln umgebildet. Mit zunehmender Zellgröße wird auch an der Zelloberfläche eine warzige Struktur sichtbar (Abb. 16). Die fädigen Abschnitte sind also entsprechend dem interkalaren Meristem viel früher fertig ausgebildet als der Basalabschnitt (Abb. 18).

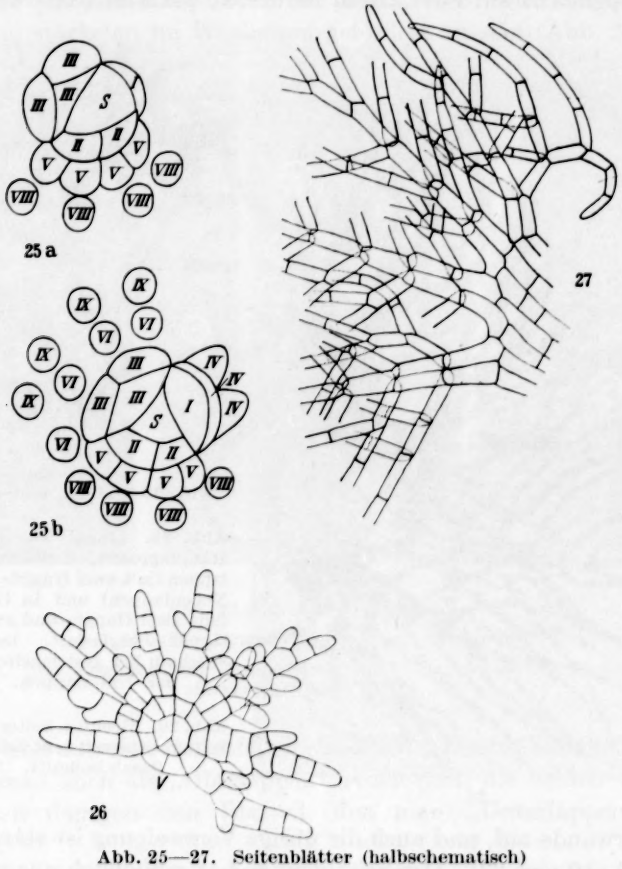
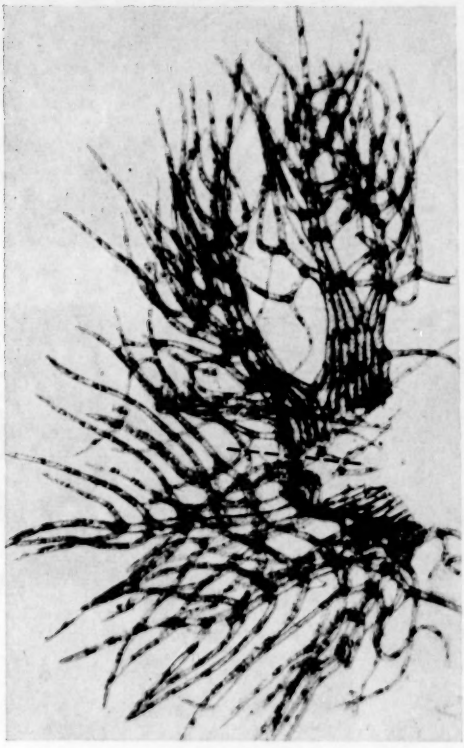


Abb. 25—27. Seitenblätter (halbschematisch)

Abb. 25a u. b. Aufsicht auf den Sproßscheitel. a Bei höherer, b bei tieferer Einstellung
Abb. 26. Querschnitt mit zwei aufeinanderfolgenden Seitenblättern. *V* Ventralsegment
Abb. 27. Linkes Seitenblatt eines Seitenzweigs, nach oben der Unterlappen

Zwischen den verschiedenen Amphigastrien finden wir Unterschiede der Verzweigung. Im allgemeinen ist am basalen Fadenabschnitt eine deutliche Asymmetrie jedes Hauptfadens festzustellen; d.h. es entwickelt sich nur der dem Blattrand zugekehrte Seitenfaden, und der der Blattmitte zugekehrte Seitenfaden fehlt. Nur als Ausnahmen können auch solche Seitenfäden mehr oder minder kräftig gegen die Blattmitte zu ausgebildet sein (Abb. 21).

Abweichend ist die Blattgestalt auch an den Seitenzweigen. Sie ist charakterisiert durch fortschreitende Vereinfachung. Bei einem Hauptsproß-Amphigastrium (Abb. 22) besteht die Basis der Hauptfäden (Hauptlappen) meist aus vier Zellen, die der Seitenfäden (Seitenlappen) aus zwei Zellen. Bei den Seitenzweig-Amphigastrien wird zunächst die Hauptlappenbasis auf zwei Zellen reduziert; die Blattbasis weist kaum



28

29

Abb. 28 und 29. Seitenblätter

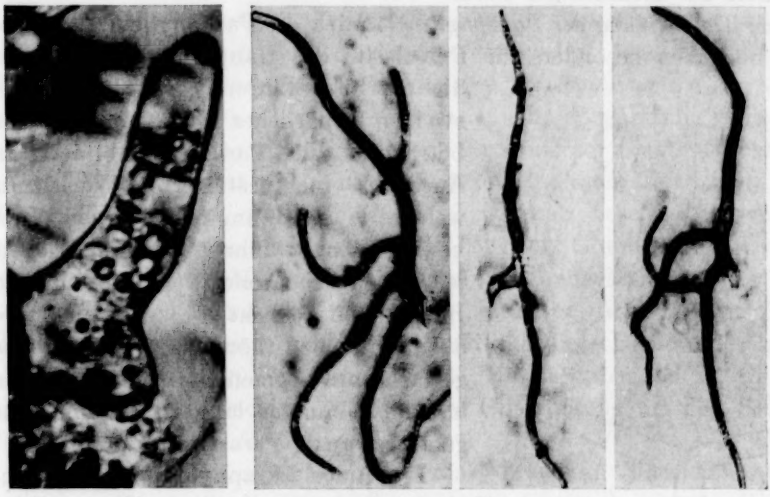
Abb. 28. Linkes Seitenblatt eines Hauptsprosses, deutlich in Oberlappen (mit zwei Haupt- und einem Nebenlappen) und in Unterlappen (mit zwei Haupt- und zwei Nebenlappen) gegliedert. Der Blatteil oberhalb der gestrichelten Linie ist der Unterlappen. 100/1

Abb. 29. Rechtes Seitenblatt eines Seitenzweigs mit acht Zellen breitem Basalabschnitt. 225/1

noch Querwände auf, und auch die übrige Verzweigung ist stark vereinfacht (Abb. 19 und 23). Der Seitenlappen hat schließlich nur noch eine einzellige Basis und unterscheidet sich nicht mehr von den übrigen Seitenfäden (Abb. 20). Im einfachsten Fall besteht die Blattbasis nur noch aus vier Zellen; die beiden Basalzellen des Hauptfadens haben sich nur einmal längs geteilt und jede Tochterzelle einmal quer. Alle weiteren Längsteilungen sind unterblieben (Abb. 24).

c) Entwicklung der Seitenblätter. Die auf S. 675f. geschilderte erste Entwicklung der Seitensegmente ergibt nicht wie bei dem Ventralsegment zwei, sondern vier periphere Zellen. Demzufolge wachsen aus dem schon seiner Anlage nach vierlappigen Seitensegment vier Fäden aus (Abb. 2, 26). Doch ähnelt die Weiterentwicklung eines Fadens der

Seitenblätter der der Amphigastrien. Es bildet sich also auch bei den Seitenblättern aus jeder der Ausstülpungen ein Hauptfaden, wobei die vier Basalzellen wieder bis über die Hälfte verwachsen bleiben. Die Seitenfäden entstehen meist nicht im Anschluß an eine Längsteilung, sondern zunächst einseitig aus den ungeteilten Hauptfadenzellen. Auch scheint von den vier Hauptfäden der dritte, vom Ventralsegment aus gesehen, am stärksten im Wachstum gefördert zu sein (Abb. 26).



30 31 a—c

Abb. 30 und 31. Paraphyllien

Abb. 30. Junges Paraphyllium. 2100/1

Abb. 31 a—c. Drei ausgewachsene Paraphyllien, bei a der apikalwärts gerichtete Faden stärker entwickelt. 188/1

Die beiden dorsalen Hauptfäden eines Seitenblattes bilden den Blattteil, den man auch als „Oberlappen" bezeichnet, die beiden ventralen Hauptfäden dagegen den Blatteil, den man „Unterlappen" nennt (Abb. 28).

Die weitere Entwicklung läßt sich deutlicher an den Seitenzweigen verfolgen. Auch hier sind die Seitenblätter in einen Basalabschnitt und vier Hauptfäden gegliedert (Abb. 27). Allerdings ist die Teilung der Hauptfäden vereinfacht. Ihre basalen Zellen teilen sich höchstens einmal längs. Der gemeinsame Basalabschnitt wird durch Längsteilungen in etwa acht Zellzüge unterteilt, die nur sehr wenige — manchmal überhaupt keine (vgl. Abb. 29) — Querwände aufweisen.

Je stärker der Durchmesser der Zweige wird, desto deutlicher sind Ober- und Unterlappen voneinander getrennt. Diese Unterschiede sind besonders groß bei den Hauptsprossen selbst. Hier bei einem Seitenblatt eines Hauptsprosses (Abb. 28) ist überdies die gemeinsame Basis von

Ober- und Unterlappen sehr schmal. Infolgedessen hängen beide nur noch durch einen schmalen, ein bis zwei Zellen breiten und zwei bis drei Zellen langen Saum zusammen. Der Basalabschnitt des Oberlappens ist wenigzellig, während derselbe beim Unterlappen breit und vielzellig wird. Am Oberlappen entwickelt sich der basale äußere Seitenfaden fast gleich stark wie die Hauptfäden, so daß dieser dreilappig erscheint (vgl. Abb. 28). Auch der äußere basale Seitenfaden des Unterlappens wird kräftig entwickelt mit mehrzelliger Basis.

d) Entwicklung der Paraphyllien. Auch die Paraphyllien sind fädig. Sie bedecken besonders die Dorsalseite des Hauptsprosses mit einem dichten Filz, während sie an den Seitenzweigen spärlicher werden. GOEBEL betrachtet die Paraphyllienbildung als Ausdruck eines gesteigerten Wachstums, welches ja auch zum plagiotropen Wuchs von *Trichocolea* führt. Prinzipiell scheint jede Oberflächenzelle, wenn sie nicht von Blattlappen bedeckt ist, zu einem Faden auswachsen zu können. Auf ein ausgewachsenes Segment, welches etwa einen halben Millimeter lang ist, kommen ungefähr zwanzig Paraphyllien.

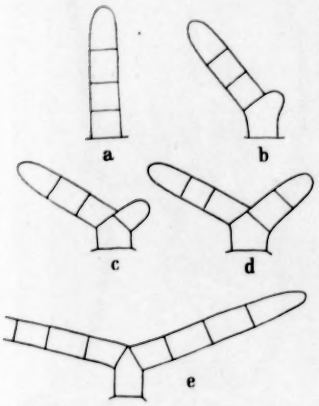


Abb. 32. Entwicklung der Paraphyllien (halbschematisch)

Der junge Paraphylliumfaden wächst zunächst wieder auf drei bis vier Zellen heran. Dann beginnt sich das apikale Ende der Basalzelle zu einem neuen Faden hervorzuwölben. Dabei biegen sich Mutter- und auswachsender Tochterfaden antagonistisch (Abb. 32). Für den Seitenfaden des Paraphylliums ist hier fast die halbe Seitenwand der betreffenden Zelle verwendet. Die Querwand wird nicht in gerader Fortsetzung des Fadens angelegt, sondern beinahe von der Mitte der Querwand der folgenden Zelle schräg bis etwa zur Mitte der Seitenwand der Basalzelle (Abb. 30, 32 c) verlaufend. Beide Fäden entwickeln sich meist gleich stark, wobei beide in Richtung der Sproßachse — der Tochterfaden meist basalwärts, der Mutterfaden meist apikalwärts — gerichtet sind (Abb. 31 b).

Es tritt also in der jeweils vom Sproß abgekehrten Zellflanke verstärktes Wachstum ein. Ein aus dem apikalwärts gerichteten Faden auszweigender Seitenfaden ist dementsprechend wieder basalwärts gerichtet, ein aus dem basalwärts gerichteten abzweigender Faden apikalwärts (Abb. 31 c). Die einzelnen Fäden sind mehr oder weniger verzweigt und vielfach gekrümmt. Die Basalzelle ist nie durch eine Längswand geteilt.

IV. Diskussion

An den Blättern von *Trichocolea* seien nur die beiden morphologischen Eigenheiten besprochen: 1. die Gabelung, 2. die Gliederung in fadenförmige Bildungen.

Zur Gabelung. Viele Autoren (z.B. Leitgeb, Goebel, Buch, Lotsy) vertreten die Meinung, daß die Blätter der akrogynen Lebermoose „ihrer Anlage nach" immer zweilappig sind. Bei der Mehrzahl der akrogynen Lebermoose unterscheiden sich diese beiden Blatthälften als Ober- und Unterlappen deutlich auch ihrer Stellung nach. Bei den ungelappt erscheinenden Blättern (z.B. in vielen Gattungen der Sammelgruppe der „Epigoniantheae": *Saccogyna*, *Gongylanthus*, *Leptocyphus*, *Chilocyphus*, *Haplozia*, *Plagiochila*) soll ebenfalls anfangs eine Ausrandung zwischen den Lappen auftreten; diese wird jedoch im Laufe der Blattentwicklung ausgefüllt. Umgekehrt gibt es im fertigen Zustand auch Blätter mit vermehrter Lappenzahl, wie es oben für *Trichocolea* beschrieben wurde. Doch sollte nach früheren Angaben (z.B. Leitgeb, Goebel) diese Unterteilung erst nachträglich in der Ontogenie zustande kommen.

Für *Trichocolea* hat sich nun gezeigt, daß sämtliche Blätter zwei- oder vierlappig dichotom gebaut sind, und daß diese Dichotomie schon in einem sehr frühen Stadium auftritt. Es ist dabei jedoch ein bemerkenswerter Unterschied zwischen der Unterteilung bei den Seitenblättern und bei den Amphigastrien:

Die *Seitenblätter* entwickeln sich von Anfang an deutlich doppelt dichotom. Das heißt die Randzellen teilen sich zunächst in vier Zellen, die sich schon früh zu vier Lappen vorwölben. Allerdings sind hier die Teilungswände nicht streng antiklinal gestellt (vgl. Abb. 4, Wand 1 und Abb. 9).

Bei den *Amphigastrien* vollzieht sich in den Randzellen zunächst nur *eine* antiklinale Teilung, so daß sich anfangs nur deren beide Teilprodukte lappig vorwölben und zu dem oben (S. 680) geschilderten Faden auswachsen. Die spätere vierteilige Struktur (vgl. Abb. 22) und damit die Angleichung an den doppelt dichotomen Bau der Seitenblätter ergibt sich durch ein seitliches Auswachsen an den beiden „Hauptlappen".

Ontogenetisch kommt also die später scheinbar übereinstimmende, vierteilige Struktur der Seitenblätter und der Amphigastrien auf verschiedene Weise zustande.

Die Differenzierung der meisten Lebermoos-Blätter in Seitenblätter und Amphigastrien ist ein phylogenetisch abgeleitetes Stadium. Die mesozoischen *Jungermanniales* (vgl. Harris) waren noch radiär. Ihre Blätter hatten noch keine unterscheidbaren Seitenblätter und Amphigastrien; sie waren noch alle gleich gebaut.

Damit taucht die Frage auf: Stellen die Seitenblätter oder die Amphigastrien von *Trichocolea* den relativ ursprünglicheren Zustand dar?

Das bedeutet folgendes: Ist die heutige Entstehung der Amphigastrien von *Trichocolea* mit einem von Anfang an „übergipfelnden" Hauptfaden, an dem die zunächst übergipfelten, aber mindestens teilweise sich später sehr kräftig entwickelnden Seitenfäden der ursprüngliche Zustand? Das würde bedeuten, daß die Differenzierung von vier Lappen in den Seitenblättern eine Verfrühung darstelle. Oder ist die Entstehung der Seitenblätter in vier Lappen der relativ ursprünglichere Zustand? Das würde bedeuten, daß der Bau der Amphigastrien abgeleitet wäre, d.h. daß hier das Austreiben der Hauptfäden eine relativ verfrühte Entwicklung infolge eines Übergipfelungsvorganges darstellen würde.

Vielleicht ist es ein Argument zu einer späteren Entscheidung in dieser Frage, daß die Vierteilung auch an schwächeren Amphigastrien der Seitenzweige gelegentlich unterbleibt. Andererseits spricht für die erstgenannte Vermutung, daß bei gestaltlich nahverwandten Formen wie bei *Mastigobryum* und bei *Lepidozia* die vier Blattzähne der Amphigastrien dadurch entstehen sollen, daß sich die beiden Außenzellen des Ventralsegments wie bei den Seitenblättern von *Trichocolea* nochmals teilen.

Im ganzen scheint mir jedoch die Ontogenie dieser Lebermoose in den Einzelheiten noch nicht klar genug, um eine erfolgreiche Diskussion hier fortzusetzen.

Unabhängig von der Frage nach den Differenzierungen zwischen den verschiedenen *Trichocolea*-Blättern ist die Frage, wieweit überhaupt die dichotomen Blätter von *Trichocolea* einen (innerhalb der Lebermoose) primitiven Zustand darstellen. Die Fossilfunde helfen hier nicht viel weiter. *Trichocolea* selbst ist erst aus der letzten Zwischeneiszeit überliefert. Die ziemlich spärlichen Fossilfunde folioser Lebermoose aus dem Paläozoikum oder aus der Trias zeigen keine dichotom gebauten Blätter. Man kann aus diesen Funden nur den Schluß ziehen, daß für die Lebermoose selbst eine Dichotomie der altertümlichen Blätter mindestens nicht zu erweisen ist.

So bleibt nur der Vergleich mit verwandten Formen als Kriterium über. Zwei- bzw. vierteilige Blätter finden sich außer bei den *Ptilidiaceae (Trichocolea, Blepharostoma, Chandonanthus, Ptilidium)* nur noch bei den *Lepidoziaceae* (Gattung *Lepidozia*) und *Lophoziaceae* (Gattung *Lophozia*). Es handelt sich also um vereinzelte Vertreter bei verschiedenen Gruppen. Auch das sichert keineswegs den Schluß auf eine Ursprünglichkeit dieser Blatt-Dichotomie innerhalb der Lebermoose. Da aber allgemein der dichotome Aufbau für die Archegoniaten wohl ein primitives Merkmal ist, scheint es wahrscheinlicher, daß die dichotome Blattstruktur von *Trichocolea* ähnlich wie ihre fädige Gestalt eine Rückkehr zum ursprünglichen Zustand darstellt.

Zur fädigen Struktur. *Trichocolea* ist, wie oben geschildert, durch eine fädige Struktur an verschiedenen Stellen bei den Blättern und anderen Organen ausgezeichnet, nämlich:

a) Vermutlich beim Protonema[1], b) ontogenetisch bei den ersten Auswüchsen der Blätter, c) bei den Endauszweigungen der Blätter (einschl. der Involucralblätter, Perianth fehlt), d) Paraphyllien, die ihr ganzes Leben fädig bleiben.

In all diesen Fällen treten monosiphone Fäden auf, d.h. die Zellachsen (Wachstums- und Teilungsachsen) bleiben in gleicher Orientierung liegen. Bei den Laubblättern allerdings (Amphigastrien und Seitenblättern) wird an der Basis der fädige Bau durch den flächigen mehr oder minder stark abgelöst — als Folge einer Drehung von Wachstums- und Zellteilungsachsen. *Trichocolea* ist dadurch ein besonders anschauliches Objekt für den Wechsel der Gesamtgestalt durch Drehung der Zellteilungs- und Wachstumsachsen.

Für die Frage, ob solche Gestaltungen bei *Trichocolea* in bezug auf die *Hepaticae* primitiv oder abgeleitet sind, muß auch hier das Vorkommen solcher fädiger Strukturen bei anderen *Hepaticae* geprüft werden. Die Ausbildung fadenförmiger Blätter findet sich außer in der Familie der *Ptilidiaceae* noch vereinzelt bei den *Lepidoziaceae*. Von der 92 Arten umfassenden Gattung *Lepidozia* hat *L. setacea* drei bis fünf, meist vier Lappen, die am Grunde zwei, oben eine Zellreihe breit sind. Auch bei *L. trichoclados* sind die drei bis vier Lappen am Grunde nur zwei, an jüngeren Ästen eine Zellreihe breit. Eine flächige Ausbildung tritt nur bei den weiblichen Hüllblättern und den Perianthien auf, an deren Rändern aber noch einzellreihige Wimpern stehen. In der Gattung *Arachniopsis*, zarten Pflänzchen des tropischen Amerika, kommen neben einfachen auch gegabelte Blätter vor. Bei *A. coactilis* bestehen die Gabeln aus einfachen Zellreihen. Auch hier werden an den (Archegonien tragenden) Sprossen die Blätter flächig entwickelt. Bei der europäischen *Blepharostoma trichophyllum* (Familie *Ptilidiaceae*) bestehen die Blätter aus vier einzellreihigen, nur an der Basis verbundenen Fäden. Die Involucralblätter (= weibliche Hüllblätter, die das Perianth umgeben; beide sind umgewandelte Blätter) weichen darin von den Laubblättern ab, daß sie geweihartig verzweigt sind. Erst das Perianth besitzt Blattflächen. Nur noch an den Rändern der vier bis fünf Blattlappen und an der Mündung des Perianths besitzt *Ptilidium* einzellreihige Fäden (vgl. Rabenhorsts Kryptogamenflora, VI. Band, II. Abt.).

Wie bei der Dichotomie spricht das spärliche Auftreten der fädigen Struktur in verschiedenen Verwandtschaftskreisen kaum für eine ursprüngliche Überlieferung, sondern für eine Rückkehr zu diesem Stadium.

[1] Da sehr selten reife Sporen gebildet werden, scheint das Auswachsen der Sporen kaum beschrieben und die Frage ungeklärt zu sein, ob auch die Protonemen fädig sind.

Der entscheidende Unterschied zwischen den fädigen Formen wie *Trichocolea* und den flächigen Formen der Masse der akrogynen *Jungermanniales* liegt im Verhalten der apikalen Zellen. Bei flächiger Blattbildung haben wir schon in der Scheitelzelle tangentiales Wachstum und dementsprechend antiklinale Teilungswände. Diese fehlen bei den fädigen Formen, die höchstens an ihrer Basis derartige Drehungen der Zellteilungs- und Wachstumsachsen aufweisen.

Zusammenfassung

1. Der vegetative Sproß von *Trichocolea* zeigt entsprechend seiner dorsiventralen Symmetrie deutliche Unterschiede in der Entwicklung der an seiner Achse sitzenden Blätter.

2. Das unpaar stehende Amphigastrium (Unterblatt) und die beiden paarig angeordneten Seitenblätter zeigen zwar im Prinzip denselben Gesamtaufbau. Es sind nämlich doppelt gegabelte (vierlappige, in ihren Enden fädig auslaufende) Blattgebilde, deren Entwicklungsprozeß, entsprechend der Sproßsymmetrie, etwas verschieden verläuft.

3. Die Vierlappigkeit der Amphigastrien kommt durch nachträgliches Auswachsen der äußeren basalen Seitenfäden zu den beiden Seitenlappen zustande.

4. Die Vierlappigkeit der Seitenblätter ist schon von Anfang an durch die ersten Teilungen des von der Scheitelzelle abgegebenen Segmentes determiniert.

5. Vielleicht beruht dieser Unterschied der Entwicklung zwischen Amphigastrium und Seitenblättern darauf, daß die beiden seitlichen Segmente am Sproßvegetationspunkt größer sind als das ventrale Segment.

6. Jeder Blattlappen wächst selbständig mittels einer Scheitelzelle zu einem neun Zellen langen Faden heran.

7. Nach Aufhören der Scheitelzelltätigkeit kann durch eine interkalare Teilungszone die Fadenlänge um ein bis zwei Zellen vermehrt werden.

8. Bis zum Vierzellstadium bleibt der das Blatt bildende Faden unverzweigt. Dann setzt von der Basis her ein Verzweigen und später nur an der Basis ein Flächigwerden ein.

9. Prinzipiell kann jede Fadenzelle an ihrem apikalen Ende seitlich zu einem mehr oder weniger verzweigten Faden auswachsen, wobei Wachstums- und Teilungsachsen nur um etwa 45° gegenüber den Hauptfadenachsen gedreht werden.

10. Wenn der fädige Abschnitt des Blattes fertig ausgebildet ist, entwickelt sich ein flächiger Basalabschnitt durch Längs- und Querteilungen aus den Basalzellen der Hauptfäden.

11. An den Seitenzweigen ist die Ausbildung der Seitenblätter und Amphigastrien vereinfacht.

12. Auch die Oberflächenzellen der Dorsalseite können zu verzweigten Fäden, den Paraphyllien, auswachsen; dabei sind Mutter- und Tochterfaden antagonistisch gebogen.

Literatur

Buch, Hans: Morphologie und Anatomie der Hepaticae. Manual of Bryology. The Hague: Fr. Verdoorn 1932. — Bünning, Erwin: Entwicklungsphysiologie, 3. Aufl., S. 96—102. Heidelberg 1953. — Douin, Ch.: Le développement des feuilles chez les Muscinées. Bull. Soc. bot. France (Paris) **73**, 559—600 (1926). — Goebel, K.: Organographie der Pflanzen, insbesondere der Archegoniaten und Samenpflanzen, 3. Aufl., Teil II, 1. Heft Bryophyten. Jena 1928. — Harris, T. M.: Naiadita, a fossil Bryophyte with reproductive organs. Ann. Bryol., I. Abt. **12**, 57—59 (1939). — Herzog, Th.: Anatomie der Lebermoose. In: Handbuch der Pflanzenanatomie; herausgeg. von K. Linsbauer. II. Abt., 2. Teil: Bryophyten. Bd. VII/1. Berlin 1925. — Hofmeister, W.: Vergleichende Untersuchungen der Keimung, Entfaltung und Fruchtbildung höherer Kryptogamen. Leipzig 1851. — Knapp, E.: Untersuchungen über die Hüllorgane um Archegonien und Sporogonien der akrogynen Jungermanniaceen. Botanische Abhandlungen, herausgeg. von K. Goebel, H. 16. Jena 1930. — Leitgeb, H.: Untersuchungen über die Lebermoose, 2. Heft. Jena 1874. — Lotsy, I. P.: Vorträge über botanische Stammesgeschichte, Bd. II. Jena 1909. — Müller, K.: Die Lebermoose. In Rabenhorsts Kryptogamenflora, Bd. VI, I. u. II. Abt. Leipzig 1909—1916. — Schiffner, V.: Hepaticae. In: Natürliche Pflanzenfamilien. Leipzig: Engler und Prantl 1909. — Troll, W.: Morphologie einschließlich Anatomie der Archegoniaten. Bryophyten. Fortschr. Bot. **5**, 13—16 (1936).

Renate Grill,
Oberstdorf i. Allgäu, Freibergstraße 28

Planta, Bd. 51, S. 694—704 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg

VERGLEICH EINER WEISSEN MUTANTE VON NEOTTIA NIDUS-AVIS (L.) L. C. RICH. MIT DER BRAUNEN NORMALFORM

EINE PHYSIOLOGISCH-ANATOMISCHE STUDIE

Von

HANS REZNIK

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. März 1958)

Unter den saprophytisch lebenden Moderorchideen verdient unsere einheimische Vogelnestwurz *(Neottia nidus-avis (L.) L. C. Rich.)* ein besonderes Interesse, weil sie unter der Maske ihrer fahlbraunen Tracht Chlorophyll a in verhältnismäßig reichlicher Menge (1,23 mg/10 g FG, SEYBOLD 1954) besitzt, während das für alle Cormophyten sonst charakteristische Chlorophyll b gänzlich fehlt.

Schon den Botanikern des vergangenen Jahrhunderts war der auffällige Farbwechsel bekannt, der eintritt, wenn man die lebenden Inflorescenzen in Methanol oder heißes Waser taucht: Die fahle Bräune weicht im Umsehen einem kräftigen blaugetönten Grün. Das Chlorophyll ist sonach in irgendeiner Weise „maskiert", und mit dieser Maskierung scheint die Funktionsuntüchtigkeit des Assimilationsapparates von *Neottia* zusammenzuhängen.

Über den saprophytischen Ernährungsmodus nämlich bestehen bei *Neottia* wenig Zweifel, doch ist zuweilen die Frage aufgeworfen worden, ob die Ausstattung mit Chlorophyll a nicht doch in bescheidenem Maße photosynthetische Tätigkeit ermöglicht. Eine beschränkte C-Autotrophie, wie sie z. B. für *Coralliorrhiza innata* wahrscheinlich gemacht worden ist (MONTFORT u. KÜSTERS 1940), könnte zumindestens für die Inflorescenzen eine bescheidene Verbesserung der Kohlenstoff-Bilanz bedeuten. Eine solche Auffassung stützt sich vor allem auf die Untersuchungen von HENRICI u. SENN (1925), deren freilich umstrittenen Resultate besagen, daß *Neottia* im Schwachlicht zur Kohlenstoff-Assimilation befähigt sei, solange das „hellbraune Chlorophyll" das Stroma der Plastiden gleichmäßig durchsetzt. Zugleich mit der späteren Lokalisierung des Farbstoffes auf bestimmte Stroma-Bezirke, die in älteren Zellen eintreten soll, gehe die Fähigkeit zur Photosynthese verloren. Die Autoren gaben ferner für *Neottia* an, daß infolge der geringen Atmung der „ökonomische Koeffizient" sogar den Grenzwert 2,5—3,6 erreichen könne.

Die erstaunlichen Angaben von Henrici u. Senn stehen im klaren Widerspruch zu Resultaten anderer Autoren, die

a) von einer intensiven Atmung,

b) von fehlender Kohlenstoffbindung im Lichtversuch

bei Inflorescenzen von *Neottia nidus-avis* berichten (Willstätter u. Stoll 1918, Montfort u. Küsters 1940, Rosenstock 1956).

Neottia nidus-avis, forma nivea. In dieser noch nicht abgeklärten Situation war es für uns ein glücklicher Fund, als wir im Mai 1954 in einem Buchenwald unweit Heidelberg (Gewann Hirschberg, nordwestl. Maisbach) einen Stock mit 4 schneeweißen *Neottia*-Inflorescenzen antrafen, den wir mit der *f. nivea* Magnus identifizierten. In der nächsten Umgebung wuchsen noch zahlreiche Stöcke der hellbraunen Normalform.

Die weiße Form, die auch 2 Jahre später wieder an derselben Stelle gesichtet wurde, ist durch Fundorte in Unterfranken, Thüringen, im Siebengebirge und in Freienwalde a. d. Oder (Hegi, Bd. 2, 2. Aufl. 1939) bekannt. Vieles spricht dafür, daß es sich um keine bloße Standorts-Modifikation handelt, sondern eher um eine Mutante, doch ist ein eindeutiger genetischer Beweis nicht zu erbringen. Da gerade die weiße Form von besonderem Interesse für das Ernährungsproblem bei *Neottia* ist, untersuchten wir sie in physiologischer und anatomischer Hinsicht und verglichen sie mit der Normalform vom gleichen Standort.

1. Die Pigmentausstattung

Zunächst wurde in vergleichenden Analysen die Pigmentausstattung eruiert (Tabelle 1). Wir bedienten uns dabei der aufsteigenden Papierchromatographie auf Schleicher-Schüll-Papier 2043 B mit dem von L. Bauer (1952) als Solvens vorgeschlagenen Gemisch I.

Tabelle 1. *Die Pigmentausstattung saprophytischer Orchideen-Formen*

	1	2	3	4
	Listera ovata	*Neottia nidus-avis*		
		braun	hell-gelb	schnee-weiß
β-Carotin . .	+	—	(—)	—
Xanthophylle	+	+	(+)	—
Chlorophyll a	+	+	(—)	—
Chlorophyll b	+	—	(—)	—

Als Beispiel einer kompletten plasmochromen Ausstattung wählten wir die von Seybold (1954) untersuchte Orchidacee *Listera ovata* (Tabelle 1, Spalte 1), deren Inflorescenzen bereits die Tendenz zur verminderten Bildung von Chlorophyll b erkennen lassen (Quotient a/b = 4,9, x/c = 11,9; Seybold 1954). In Spalte 2 ist die Normal-Form von *Neottia* behandelt. Sie besitzt überhaupt kein Chlorophyll b mehr, auch nicht in Spuren, die auf dem Papierchromatogramm mit Sicherheit nachzuweisen wären. Dieser Befund stimmt mit den Resultaten von Fluorescenzmessungen (Wilschke 1914) und säulenchromatographischen

Analysen überein (SEYBOLD u. EGLE 1937). Damit erweist sich *Neottia* als Chlorophyll b-Verlustmutante (s. a. SEYBOLD 1954). Beachtenswert ist auch das Fehlen von β-Carotin.

Die Spalte 4 unserer Tabelle bezieht sich auf die Pigmentierung der weißen Form: Keinerlei Plastidenpigmente sind nachweisbar. *Es sind weder Chlorophylle noch Carotinoide vorhanden.* Die „schneeweiße" Form könnte hiernach als Mutante interpretiert werden, die die Fähigkeit zur Chlorophyll- und Carotinoid-Bildung überhaupt verloren hat.

Nun gibt es eine anscheinend seltene *gelbe* Form (*f. sulphurea* WEISS, bislang nur bei Greiffenberg südlich des Ammersees gefunden), die, so schließen wir, zwischen der Normalform und der pigmentlosen Variante insofern vermitteln könnte, als ihr noch die Fähigkeit zur Bildung der Xanthophylle eigen sein könnte. Die — durchaus hypothetische — Pigmentausstattung haben wir in Spalte 3 eingetragen. Eine Untersuchung dieses sehr seltenen Objektes war uns bisher noch nicht möglich.

Für unser Problem ist mitzuteilen wichtig, daß die „schneeweiße" Form keinerlei Anzeichen einer verminderten Vitalität besitzt. Die sehr kräftigen Inflorescenzen unterscheiden sich — abgesehen von ihrer Farbe — in keiner Weise von den braunen Vergleichsexemplaren desselben Standortes. Sie sind ebenso hoch und tragen ebenso viele wohlausgebildete Blüten wie die normalen Stöcke.

Im Habitus kommt also ein Unterschied in der Ernährungsweise nicht zum Ausdruck.

2. Der Gaswechsel

Wir verglichen den Gaswechsel der beiden Formen mit Hilfe des URAS und bedienten uns dabei der Methode des geschlossenen Gasstromkreises (EGLE u. ERNST 1949, FRANKE 1952).

Will man bei C-Autotrophen die apparente Assimilation messen, so läßt man es bei Anwendung des geschlossenen Gasstromkreises in einem Dunkel-Versuch zu einer Akkumulation von CO_2 kommen. Das durch die Respiration erzeugte CO_2-

Tabelle 2. *Gaswechselmessungen mit dem URAS*

		Lichtversuche CO_2-Ausscheidung	Temperatur	Dunkelversuche CO_2-Ausscheidung	Temperatur
Neottia weiße Form	A	0,15 mg/h/g FG	22,5° C	0,14 mg/h/g FG	21,5° C
	B	0,21 „	22,2	0,20 „	22,0
	C	0,22 „		0,20 „	
Neottia Normalform	D	0,41 mg/h/g FG	22,5° C	0,38 mg/h/g FG	21,5° C
	E	0,36 „	22,9	0,29 „	21,5
	F	0,24 „	22,7	0,23 „	21,3

Reservoir (im Beispiel von Abb. 1: 0,04 Vol.-%) wird nun in einem nachfolgenden Lichtversuch abgebaut. Die Senkung des CO_2-Spiegels (in unserem Beispiel Abb. 1 um 0,40 mg/h) entspricht der apparenten Assimilation.

Lichtquelle im Assimilationsversuch: Osram T-Lampe 200 W, Abstand von der Cuvettenmitte: 10 cm, = ~ 8000 Lux.

Das oben beschriebene Meßverfahren muß bei *Neottia* von vornherein ausscheiden, da infolge des saprophytischen Charakters eine apparente Assimilation nicht zu erwarten ist. In dem angenommenen Falle aber, daß das Assimilationspigment der Normalform photosynthetisch — wenn auch in bescheidenem Maße — tätig ist, müßte im Lichtversuch bei der Normalform wenigstens eine meßbare Verminderung der CO_2-Entbindung eintreten, während die weiße Form keine derartige Beeinflussung im Licht aufweisen dürfte, da ja infolge der Abwesenheit der Assimilationspigmente eine Photosynthese per se ausgeschlossen ist (Abb. 1 „*L*").

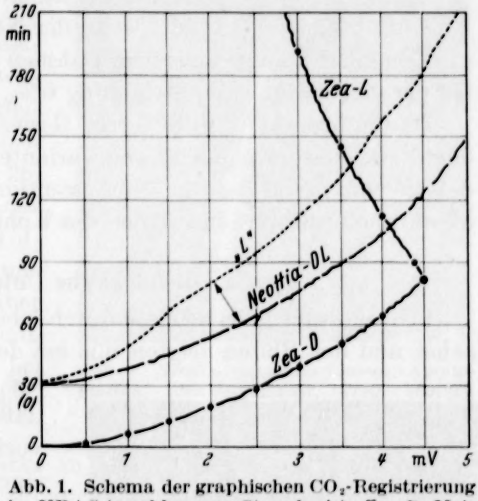


Abb. 1. Schema der graphischen CO_2-Registrierung im URAS (geschlossener Stromkreis). *Zea-D:* Mais im Dunkelversuch; die Kurve entspricht einer CO_2-Abgabe von 1,434 mg/h. *Zea-L:* Mais im Lichtversuch; CO_2-Verbrauch von 0,405 mg/h. *Neottia-DL:* Reelle Atmungskurve im Dunkel- und Lichtversuch; CO_2-Abgabe 1,68 mg/h. „*L*": Zu erwartende Atmungskurve im Lichtversuch, falls die braune Form von *Neottia* partiell C-autotroph

Entscheidend ist also, ob die Differenz zwischen Dunkel- und Lichtatmung hinsichtlich der numerischen Größe und hinsichtlich des Vorzeichens bei beiden Varianten gleich oder verschieden ist. Im ersteren Falle ist der extreme Holosaprophytismus auch für die braune Form von *Neottia* erwiesen, im anderen Falle besteht der Verdacht auf partielle C-Autotrophie zu Recht.

Den in Tabelle 2 und 3 zusammengefaßten Resultaten ist folgendes zu entnehmen:

1. Die Normalform und die weiße Form reagieren bei einem Wechsel vom Dunkelversuch zum Lichtversuch gleichsinnig mit einer leichten

Tabelle 3. *Vergleich der Respirationsgrößen*

	A	B	C	D	E	F
Differenz Lichtversuch-Dunkelversuch in mg/h/g FG	0,01	0,01	0,02	0,03	0,07	0,01
Prozentuale Steigerung der CO_2-Entbindung im Lichtversuch .	+ 7%	+ 5%	+ 10%	+ 8%	+ 24%	+ 4%
Temperaturdifferenz L—D in ° C	1,0	0,2		1,0	1,4	1,4

Erhöhung der CO_2-Ausscheidung, die im wesentlichen auf der Temperaturänderung in der Cuvette beruht. Diese Änderung des „Cuvetten-

klimas" muß, da mit der Strahlungsabsorption durch das Pflanzengewebe zusammenhängend, hingenommen werden.

2. Die Übereinstimmung zwischen *nivea*-Form und Normal-Form erstreckt sich nicht nur auf das Vorzeichen der Änderung, sondern auch auf deren Größe: Die prozentuale Atmungssteigerung im Lichtversuch beträgt im Durchschnitt

7,1 % bei der *nivea*-Form
12 % bei der Normalform.

Eliminiert man den aus dem Rahmen fallenden Versuch E, so beträgt bei der Normalform die Steigerung 6%.

Da die braune Form in ihrem Gaswechsel keine Abweichungen von dem Verhalten der pigmentlosen Variante zeigt, muß geschlossen werden, daß *Neottia nidus-avis* in ihren sämtlichen Pigmentierungs-Varianten absolut heterotroph hinsichtlich des Kohlenstoffes ist.

3. Histologische Untersuchung

Flächen- und Querschnitte durch lebendes Gewebe der Inflorescenzachse und der Blüten zeigten uns bei den Petalen sowohl der braunen als auch der weißen Form, daß wohlausgebildete Schließzellen vorhanden sind (Abb. 2), was eine ältere Angabe (DE BARY 1877), die vom Fehlen der Spaltöffnungen bei *Neottia* berichtet, widerlegt.

Abb. 2. *Neottia nidus-avis f. nivea:* Schließzellen aus der Petalenepidermis, in Flächenaufsicht. Phasenkontrastaufnahme, Vergr. 500fach

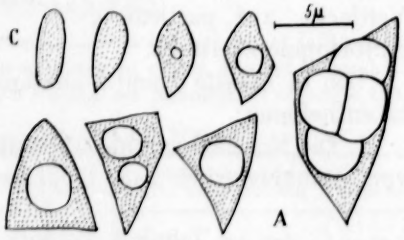


Abb. 3. *Neottia nidus-avis* f. *nivea:* „Chloroplasten" und Amyloplasten in verschiedenen Entwicklungsstadien. C: „Chloroplasten", A: Amyloplasten

Auch die Plastiden der parenchymatischen Gewebe sind bei beiden Pigment-Varianten in gleicher Weise gestaltet, obwohl die Pigment-Ausstattung so stark divergiert. Die in den Abb. 3 und 4 wiedergegebenen Plastiden stammen von der *f. nivea*. In Abb. 3 sind oben links die in jungen Geweben vorherrschenden länglich-ovalen bis zugespitzt-ovalen „Chloroplasten" zu sehen, deren Stroma einen sehr homogenen

Eindruck macht. Mit dem Altern der Plastiden und der damit verknüpften Umwandlung in Amyloplasten (Abb. 3 unten und rechts) nehmen diese einen mehr deltoiden, trapezoiden oder rautenförmigen Umriß an, unter gleichzeitiger Volum-Zunahme. Auch werden nun die Stärkebezirke als scharf umgrenzte Areale sichtbar (s. a. Abb. 4). Wer sich die Mühe nimmt, in Schimpers klassischer Plastiden-Arbeit (1883) nachzuschlagen, findet dort die gleichen Stadien für die Normalformen von *Neottia* (in Zeichnung 28, Tafel XX I). Die Stärke-Areale der Amyloplasten können mit KJ-J_2 angefärbt werden. Es nimmt uns nach allem, was wir bisher über *Neottia* wissen, nicht wunder, daß auch die Stärke-Reaktion bei beiden Pigment-Varianten gleichartig ausfällt (Abb. 5a, b).

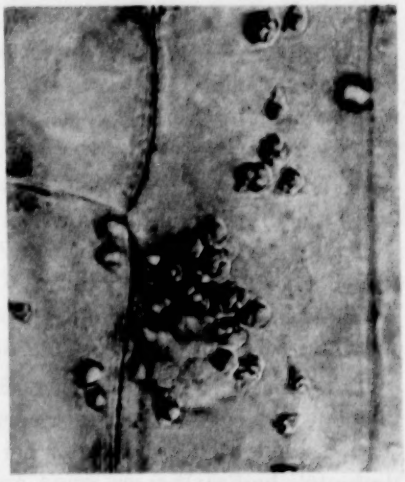
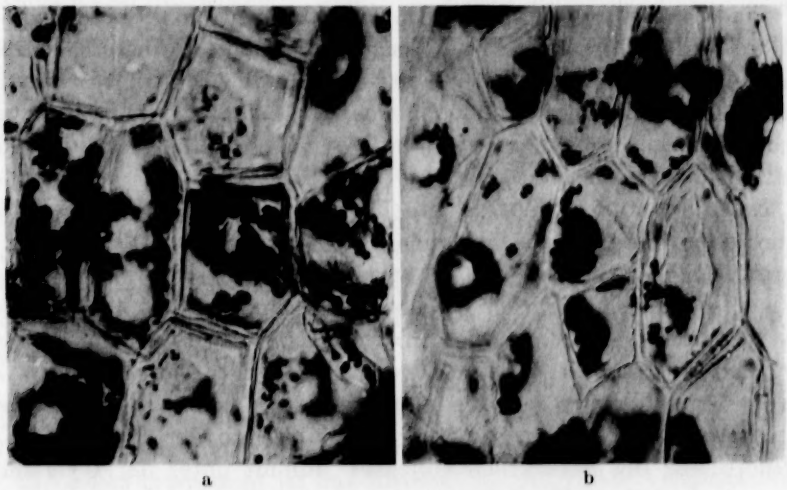


Abb. 4. *Neottia nidus-avis* f. *nivea:* Amyloplasten. Phasenkontrast, Vergr. 800fach

Die Akkumulation der Stärke in den Plastiden der Inflorescenz-Gewebe findet nach Weber (1920) auch dann noch statt, wenn die ober-



a b

Abb. 5a u. b. *Neottia nidus-avis:* Stärkenachweis mit Jod-Jodkalium. a Braune Normalform, b *nivea*-Form. Vergr. 280fach

irdischen Teile der Pflanze längere Zeit verdunkelt werden, ein Verfahren, das bei einem C-autotrophen Organismus unweigerlich zu Stärke-Abbau

führen würde. Dieses Argument für den vollsaprophytischen Charakter von *Neottia* wird durch unsere Daten, die bei beiden Mutanten die völlige Kongruenz zwischen Plastidenform und Plastidenleistung erweisen, gestützt.

4. Zur Frage des „maskierten Chlorophylls"

Die Tatsache, daß *Neottia* trotz ihrer braunen Farbe noch verhältnismäßig reich mit Chlorophyll a versehen ist, hat mehrere Interpretationen gefunden:

1. wird angenommen, daß das präexistierende Chlorophyll in vivo durch einen braunen Farbstoff von unbekannter Konstitution überdeckt wird (WIESNER 1872), etwa wie das Laubgrün der *atropurpurea*-Mutanten (Blutbuche, Bluthasel, Blutbirke usw.) durch Anthocyanine. Beim Extrahieren würde der braune *Neottia*-Farbstoff in eine farblose Modifikation übergehen und das Chlorophyll unserem Auge sichtbar werden.

2. ist man der Auffassung, daß das Chlorophyll in vivo als braunes Pigment vorliegt, was auf sehr spezielle physikalische Verteilungsbedingungen hindeuten würde, die bei der Abtötung des Gewebes (durch Methanol, heißes Wasser usw.) aufgehoben würden, so daß die grüne Farbe in einem echten Farbumschlag zum Vorschein gelangt (SEYBOLD 1954).

Dieser anomale Verteilungszustand in den Plastiden wäre demnach a) für die nichtgrüne Farbe der Pflanze und b) für den Funktionsverlust verantwortlich.

Fluorescenz-Beobachtungen. Da die Steigerung bzw. Löschung der Chlorophyll-Fluorescenz ein — auch in der Photosynthese-Forschung als Meßgrundlage verwendeter — sehr empfindlicher Indicator für den Verteilungszustand der Plastidenpigmente ist, befaßten wir uns — frühere Beobachtungen SEYBOLDs fortsetzende — mit der Fluorescenz lebender und abgetöteter *Neottia*.

Nach SEYBOLD u. EGLE (1940) ist zu unterscheiden zwischen der Fluorescenz der Plastiden im primären Zustand und der Fluorescenz in durch Eingriffe veränderten Plastiden. Die erstere wollen wir als „Fluorescenz des natürlichen Objektes" bezeichnen; sie ist abhängig von der spezifischen Anordnung des Chlorophylls in den Plastiden, etwa als monomolekularer Film entsprechend den bisherigen Vorstellungen. Zu dieser Grundbedingung treten noch weitere Momente hinzu, die die Fluorescenz beeinflussen, z. B. der Quellungsgrad der Plastiden. Die „Fluorescenz des natürlichen Objektes" nimmt unter der UV-Lampe eine satt dunkelrote Tönung an.

Die „Fluorescenz des behandelten Objektes", durch intensiv orangerote Farbtöne gekennzeichnet, ist eine Folge nachhaltiger irreversibler Veränderungen des Verteilungszustandes der Plastidenpigmente. Sie

dürfte im wesentlichen auf einer Lösung des Chlorophylls in den Plastiden-Lecithinen beruhen, worauf Modellversuche hinweisen.

Die Fluorescenz anderer Zellbestandteile (Blau-Fluorescenz der Cellulose-Membranen, Blau-Grün-Fluorescenz vieler Zellsäfte) interessiert in diesem Zusammenhang nicht; man kann sie bei der Beobachtung mit Hilfe geeigneter Farbfilter eliminieren.

Unter der UV-Analysen-Lampe (Heraeus PL 344, 366 mμ) fluorescierten lebende *Neottia*-Blüten und Inflorescenzen schwach rotviolett. Beim Eintauchen in Methanol oder heißes Wasser (je 10—60 sec) erfolgt zugleich mit dem Farbwechsel nach Grün ein lebhafter Fluorescenzumschlag nach Orange-Rot. Dies bedeutet:

1. Das Erscheinen der grünen Farbe beruht auf einer Änderung der Verteilungsbedingungen des Pigments in den Plastiden.

2. Die Art des Fluorescenzumschlages spricht gegen die Existenz des von Wiesner angenommenen vom Chlorophyll unabhängigen braunen Farbstoffes (s. Tabelle 4).

Tabelle 4. *Farbwechsel und Fluorescenz bei Neottia*

Art der Behandlung	Objekt-Farbe	Chlorophyll-Fluorescenz	Fluorescenz anderer Zell-Bestandteile
1. Lebend unbehandelt . .	Hellbraun	schwache Rotviolett-F.	
2. Methanol (10—60 sec) . .	Grün	intensiv leuchtende Orangerot-Fluor.	
3. Heißes Wasser (10—60 sec)	Grün	intensiv leuchtende Orangerot-Fl.	
4. Flüssiger N_2 (—196° C) .	Hellbraun	Löschung	Hellblau-Fl.
5. N_2 + Methanol	Hellbraun	Löschung	Hellblau-Fl.
6. Trockeneis (—78,5° C) .	Hellbraun	Löschung	Hellblau-Fl.
7. Trockeneis + Methanol .	Hellbraun	Löschung	Hellblau-Fl.
8. Kaltes Methanol (—1° C)	Grün	intensiv-leuchtende Orangerot-Fl.	

Versuche mit flüssigem Stickstoff und Trockeneis. Taucht man lebende *Neottia* in flüssigen Stickstoff (—196° C), so erlischt die Chlorophyll-Fluorescenz sofort, ohne daß sich die braune Farbe des Objektes ändert. Es ist dagegen eine von den Zellwänden ausgehende Blau-Fluorescenz wahrnehmbar.

Den gleichen Effekt erhält man, wenn man *Neottia* in pulverisiertes Trockeneis (—78,5° C) einlegt. Auch hier wird eine Löschung der Chlorophyll-Fluorescenz konstatiert, ohne daß sich die Objektfarbe ändert.

Besonders interessant ist das Resultat des folgenden Versuchs: Wir zerrieben *Neottia* mit Quarzsand und Trockeneis zu einem *braunen* körnigen Pulver von —60° C. Wenn wir nun unterkühltes Methanol vorsichtig zusetzten (—25° C), so behielt das feuchte Pulver seine *braune* Farbe bei. Nach Filtrieren bei —15° C resultierte ein *braunes* Filtrat und

ein *brauner* Rückstand. Filtrat wie Rückstand zeigten keine Chlorophyll-Fluorescenz.

Erwärmte sich der Rückstand und das Filtrat, so erfolgte bei -1^0 *C* ein plötzlicher Farbumschlag von *Braun* nach *Blaugrün* (im Rückstand), bzw. von *Braun* nach *Gelbgrün* (im Filtrat).

Mit dem Farbumschlag ist gleichzeitig das Auftreten einer intensiv orangeroten Fluorescenz verknüpft.

Der schon den älteren Botanikern bekannte Farbumschlag mit Methanol bleibt demnach in unterkühlten Lösungen aus. Im folgenden Absatz soll versucht werden, eine plausible Interpretation für diese Besonderheiten zu geben.

Neottia-Chlorophyll als Einschluß-Phänomen. Manche Farb- und Farbwechsel-Erscheinungen im Tier- und Pflanzenreich werden neuerdings als Einschluß-Phänomene interpretiert (CRAMER).

So soll das Pigment der Flußkrebse in situ seine braune Farbe einer typischen Einschlußverbindung verdanken, die nach Zerstörung des Einschluß-Systems — durch Eintauchen des Tieres in siedendes Wasser — in Rot umschlägt. Auch bei der Farbstabilisierung der Blütenpigmente ist die Beteiligung von Einschluß-Systemen möglich. Unveröffentlichte Modellversuche mit Cyclohexa- und Cyclohepta-Glucanen („Schardinger-Dextrine") (REZNIK 1957) zeigten, daß auch die Vacuolen-Farbstoffe (Chymochrome) durch Einschluß-Bindung stabilisiert werden können. So behalten Anthocyanine auch im schwach sauren Milieu die blaue Farbe der Farbsalze, wenn in der Lösung Schardinger-Dextrine vorhanden sind. Die daraus resultierende „Einschluß-Alkalität" in sauren Zellsäften könnte erklären, weshalb trotz des wohl grundsätzlich sauren Zellsaft-Charakters in Blüten auch blaue Farbtöne recht häufig sind.

Auch die Farb-Phänomene von *Neottia* könnten im Sinne einer Einschluß-Hypothese formuliert werden:

Durch Einschließung in Plastiden-Strukturen (Proteine) wäre eine Beeinflussung des die grüne Farbe hervorrufenden Resonanzsystems im Porphyrin-Skelet möglich. Diese Veränderung der normalen Resonanz würde auch in unterkühlter Lösung beibehalten und erst bei Erwärmen „auftauen".

〈 Chl a 〉	Einschluß-System in vivo Braun „Fluorescenz des natürlichen Objektes"
↓	
〈 Chl a 〉	Unterkühlte methanolische Lösung -1^0 C bis -60^0 C Braun Fluorescenz-Löschung
↓	
Chl a	Methanolische Lösung Grün „Fluorescenz des behandelten Objektes"

Die Annahme eines Einschluß-Systems (im Sinne von LAUTSCH u. Mitarb.) würde nicht nur die Besonderheiten des Farbwechsels und des

Fluorescenzumschlags erklären, sondern sie wäre gleichzeitig auch eine brauchbare Diskussionsgrundlage für den unbezweifelbaren Funktionsverlust des braunen Chlorophylls.

Neuere Modell-Versuche mit Enzym-Einschluß-Systemen (Lautsch) deuten darauf hin, daß die Enzymaktivität durch Einschließungsvorgänge stark beeinflußt werden kann. Es wäre vorstellbar, daß ein Einschließungsvorgang zu einer vollständigen Blockierung enzymatischer Leistungen führen könnte. Dies würde dem Fall entsprechen, wie er bei *Neottia* vorliegt. Ob die bei spektroskopischen Messungen an lebenden grünen Laubblättern konstatierte „Rotverschiebung" der Chlorophylle um 10—15 mμ auf ~680 mμ gegenüber den Absorptionsmaxima der Chlorophyll-Lösungen (650—665 mμ) oder der abgetöteten Blätter (663—670 mμ) auf Einschluß-Phänomenen beruht, wäre nützlich zu diskutieren.

Zusammenfassung

Eine weiße Abart der saprophytischen Orchidee *Neottia nidus-avis* wurde hinsichtlich der Pigmentausstattung, des Gaswechsels, der Plastiden-Morphologie und der Plastiden-Funktion mit der braunen Normalform verglichen.

1. Die weiße Form ist frei von Chlorophyllen und Carotinoiden. Die braune Normalform enthält in den Plastiden Chlorophyll a und Xanthophylle.

2. Die CO_2-Ausscheidung beider Pigmentierungs-Typen ist im Licht- wie im Dunkel-Experiment gleich. Auch in längerdauernden Lichtversuchen ist bei der chlorophyll-haltigen Form kein CO_2-Verbrauch zu konstatieren.

3. Die Entwicklungsgeschichte der Plastiden sowie die Speicherung der Saprophytenstärke in den Amyloplasten vollzieht sich bei der pigmentlosen Form in der gleichen Weise wie bei der braunen Normalform.

4. Aus diesen Resultaten ist der Schluß zu ziehen, daß die Normalform von *Neottia nidus-avis* in ihrer Kohlenstoffversorgung ein echter Holosaprophyt ist. Frühere Angaben über eine begrenzte C-Autotrophie sind unrichtig.

5. Das Chlorophyll a der Normalform liegt in einer braunen Farbmodifikation vor, die auf spezifischen physikalischen Verteilungsbedingungen in den Plastiden beruht. Der besondere Verteilungszustand ist die Ursache der Untauglichkeit des Assimilations-Apparates.

6. Versuche über den Farbwechsel und Fluorescenzwechsel in Abhängigkeit von Temperatur- und Lösungsmittel-Einwirkungen führen zu der Deutung des *Neottia*-Chlorophylls als „Einschluß-System".

Literatur

Bary, A. de: Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane. Leipzig 1877. — Bauer, L.: Trennung der Carotinoide und Chlorophylle mit Hilfe der Papierchromatographie. Naturwissenschaften **39**, 88 (1952). — Cramer, F.: Über Einschlußverbindungen I. Chem. Ber. **84**, 851—854 (1951). — Einschlußverbindungen. Angew. Chem. **68**, 115—120 (1956). — Egle, K., u. A. Ernst: Die Verwendung des URAS für die vollautomatische und fortlaufende CO_2-Analyse bei Assimilations- und Atmungsmessungen an Pflanzen. Z. Naturforsch. **4b**, 351—360 (1949). — Franke, W.: Die Wirkung des Vitamins C auf die Atmung von Keimlingen. Planta (Berl.) **41**, 197—213 (1952). — Hegi, G.: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, 2. Aufl., Bd. 2. München 1939. — Henrici, M., u. G. Senn: Chromatophoren und Kohlensäure-Assimilation nicht-grüner Gefäßpflanzen. Ber. schweiz. bot. Ges. **34**, 110—141 (1925). — Lautsch, W., W. Bandel u. W. Broser: Einschließungserscheinungen in Lösungen. Z. Naturforsch. **11b**, 282—291 (1956). — Montfort, C., u. G. Küsters: Saprophytismus und Photosynthese I. Bot. Archiv **40**, 571—633 (1940). — Rosenstock, G.: Die Atmung von Orchideen-Infloreszenzen im Verlaufe ihrer Vegetationsperiode. Z. Bot. **44**, 77—87 (1956). — Schimper, A. F. W.: Über die Entwickelung der Chlorophyllkörner und Farbkörper II. Bot. Ztg **41**, 131 (1883). — Seybold, A.: Über die physiologische Bedeutung der Chlorophyllkomponenten a und b. Bot. Archiv **42**, 254—288 (1941). — Untersuchungen über den Farbwechsel von Blumenblättern, Früchten und Samenschalen. S.-B. Heidelberg. Akad. Wiss., Math.-nat. Kl. **1953/54**, 31—124 (1954). — Seybold, A., u. K. Egle: Lichtfeld und Blattfarbstoffe I. Planta (Berl.) **26**, 491—515 (1937). — Über den physikalischen Zustand des Chlorophylls in den Plastiden. Bot. Archiv **41**, 578—603 (1940). — Weber, F.: Notiz zur Kohlensäure-Assimilation von Neottia. Ber. dtsch. bot. Ges. **38**, 233—242 (1920). — Wiesner, J.: Untersuchungen über die Farbstoffe einiger für chlorophyllfrei gehaltenen Phanerogamen. Jb. wiss. Bot. **8**, 575—583 (1872). — Wilschke, A.: Über die Fluoreszenz der Chlorophyll-Komponenten. Z. Mikr. **31**, 338—350 (1914). — Willstätter, R., u. A. Stoll: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918.

Priv.-Doz. Dr. Hans Reznik,
Botanisches Institut der Universität Heidelberg

Planta, Bd. 51, S. 705—721 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule
Stuttgart-Hohenheim

GRENZEN UND ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN DER COLORIMETRISCHEN CO_2-BESTIMMUNG

Von
HELMUT LIETH

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. März 1958)

Einleitung

Die colorimetrische CO_2-Bestimmung ist seit ihrer Entwicklung durch KAUKO (1934) in mannigfacher Weise zur Bearbeitung meteorologischer, physiologischer und ökologischer Fragen angewendet worden. Eine erstmalig von ÅLVIK (1939) benutzte Anwendungsform der Methode, mit deren Hilfe man leicht CO_2-Umsatzmessungen an Pflanzen unter ökologischen Bedingungen vornehmen kann, wurde vor längerer Zeit am Botanischen Institut Hohenheim weiterentwickelt (WALTER 1949, 1951, ZELLER 1951). Die Methode wurde danach häufig angewendet, aber 1955 durch FRENZEL scharf kritisiert. Mit den Einwänden FRENZELS hat sich LANGE (1956) dann eingehend befaßt und sie weitgehend entkräftet, hat aber seinerseits auf Unstimmigkeiten in der Berechnung des CO_2-Umsatzes nach der Formel von KAUKO und CARLBERG (1935) und CARLBERG (1936) hingewiesen. In den beiden Arbeiten von FRENZEL und LANGE findet sich eine Zusammenstellung der bis dahin über die Methode erschienenen Literatur. Von den Autoren, die danach mit der Methode arbeiteten, wird sie unterschiedlich bewertet. VIEBAHN (1955) beurteilt sie ungünstig, RHEINHEIMER (1957) und HOSOKAWA und ODANI (1957) wenden sie ohne Bedenken an und ČATSKÝ und SLAVIK (1958) bauen sie weiter aus. Gerade die letzten Arbeiten zeigen auch, daß ein unverminderter Interesse an der Methode besteht und daß es daher wichtig war, sie nochmals eingehend zu prüfen, um ihre einwandfreie Anwendung in Zukunft zu gewährleisten. Die Methode verlangt in besonderem Maße die Kenntnis ihrer Grenzen und Anwendungsmöglichkeiten, da man sie leicht überfordern kann. Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, in dieser Hinsicht Klarheit zu schaffen.

In der vorliegenden Arbeit werden eine Reihe von Begriffen erwähnt, die nicht unbedingt allgemeinverständlich sind und deren Definition daher hier wiederholt werden soll:

Unter einem *CO_2-Kompensationspunkt* versteht man nach EGLE und SCHENK (1953) die minimale Kohlensäurekonzentration der umgebenden Luft, die eine Pflanze trotz optimaler Lichtverhältnisse (und unter den günstigsten sonstigen

Lebensbedingungen) nicht mehr assimilieren kann. Dies entspricht dem CO_2-Grenzwert nach AUDUS (1947) und GABRIELSEN (1948).

Daneben haben EGLE und SCHENK als *Lichtkompensationspunkt* den Kompensationspunkt nach PLÄTZER (1917) und HARDER (1923) erneut definiert. Auf Grund ihrer besonderen Arbeitsmethode, bei der sie mit konstantem Licht und variierender CO_2-Spannung arbeiten, verstehen sie unter dem Lichtkompensationspunkt den CO_2-Partialdruck, der einer Pflanze bei einer bestimmten, aber immer unteroptimalen Beleuchtungsstärke, keine weitere registrierbare Assimilationstätigkeit gestattet. Da dieser Kompensationspunkt sowohl von der CO_2-Konzentration als auch von der Lichtstärke ausgehend definiert werden kann, entspricht er vollständig dem bisher üblichen Begriff „Kompensationspunkt".

Demgegenüber bewegt sich der *Tageskompensationspunkt*, wie er von WALTER (1949) und ZELLER (1951) verwendet wird, in einem ganz anderen Maßsystem. Man gebraucht ihn bei der Angabe der Tageszeitspanne, in der eine Pflanze im geschlossenen Gasraum, die über Nacht angestaute Atmungskohlensäure reassimiliert hat. In der englischsprachigen Literatur wird dafür der Begriff „daily compensation period" gebraucht. Dieser Kompensationspunkt bedeutet in der Pflanzenökologie etwas ganz anderes als die vorangegangenen Kompensationspunkte. Da wir aber gezwungen sind, alle 3 Ausdrücke nebeneinander zu verwenden, möchten wir statt des Wortes Tageskompensationspunkt den Begriff *Tagesbilanzpunkt* verwenden. Damit wird man unseres Erachtens den tatsächlichen Vorgängen bei dieser Arbeitsweise auch besser gerecht.

Die Verwendung des Begriffes Lux als Einheit bei Lichtmessungen in der Botanik ist aus bekannten, sachlichen Gründen (vgl. NUERNBERGK 1954) denkbar ungünstig. Wir sind aber auf diese Maßeinheit noch solange angewiesen, wie wir unsere Lichtmessungen vorwiegend mit einem Luxmeter durchführen. Wegen der spektral verschiedenen Empfindlichkeit der Photozellen werden gleiche Luxzahlen von verschiedenfarbigen Lichtquellen von den Pflanzen unterschiedlich bewertet. Am Tageslicht können wir das in der Regel vernachlässigen, nicht aber bei Messungen im Lampenlicht. Wir geben daher dem Begriff Lux, entsprechend den verschiedenen Lichtquellen, besondere Indices und zwar für

$$\text{Lux Tageslicht} = \text{Lx}^{\cdot} \qquad \text{Lux Glühlampe} = \text{Lx}^{\circ}$$
$$\text{Lux Leuchtstoffrohr} = \text{Lx}^{-} \qquad \text{Lux Quecksilberhöchstdrucklampe} = \text{Lx}^{=}$$

Wenn es nicht möglich ist, die in einer Arbeit verwendeten Lichtquellen durch Umrechnen auf Energieäquivalente in das gleiche Maßsystem überzuführen, ist es zweckmäßig, so vorzugehen, wie hier vorgeschlagen wird, um den Leser sofort darauf aufmerksam zu machen, daß es sich jeweils um verschiedene Maßstäbe handelt.

Prüfung der Methode

Die Ålviksche Methode arbeitet nach folgendem Prinzip: In ein verschließbares Glasgefäß wird eine Pflanze (oder ein Teil von ihr) eingebracht. Auf den Boden des Gefäßes gibt man einige cm^3 einer stark verdünnten $NaHCO_3$-Lösung mit KCl-Zusatz. Eine solche Lösung stellt sich jeweils mit der CO_2-Spannung der darüber befindlichen Luft ins Gleichgewicht und verändert dabei ihren p_H-Wert. Mit Hilfe eines geeigneten Indicators, in unserem Falle Kresolrot, den man der Lösung zufügt, bestimmt man den p_H-Wert und berechnet daraus mit einer gegebenen Formel die CO_2-Menge, die in der Luft vorhanden ist. Der Kohlensäuregehalt der Versuchsluft wird nur dadurch verändert, daß

zum Einstellen des Gleichgewichtes zwischen Lösung und Luft CO_2 ausgetauscht wird. Wenn die Reaktionslösung im Verhältnis zum Luftkörper klein ist, kann man das praktisch vernachlässigen, und die Methode arbeitet dann ähnlich wie der Uras im geschlossenen Gasstrom. Um die vielen Einwände, die von FRENZEL gegen die Methode erhoben wurden, nachzuprüfen, war es für uns daher günstig, daß wir ein Colorimetergefäß in eine geeignete Uras-Schaltung einbauen konnten. Vor allem war es uns dadurch leicht möglich, die von LANGE gefundenen Unstimmigkeiten der Berechnungsformel nachzuprüfen.

Wir verwendeten dazu den Uras[1] in folgender Schaltung (Abb. 1): Mit Hilfe einer Membranpumpe (*P*) wurde die vom Uras (*U*) registrierte Luft über eine Befeuchtungseinrichtung (*B*) zur Colorimetercuvette (*K*) gepumpt. Dabei strömte die Luft mit einem scharfen Strahl aus einer engen Düse auf die Colorimeterflüssigkeit. Ein guter und schneller CO_2-Austausch war dadurch gesichert. In die Cuvette konnten gleichzeitig Pflanzen aufgenommen werden. Die austretende feuchte Luft wurde anschließend über einen Trocknungsraum (*T*) dem Uras wieder zugeführt. Die Art der Schaltung haben wir im wesentlichen von EGLE und SCHENK (1951) übernommen. Sie bewährte sich ausgezeichnet. Die colorimetrische Methode ließ sich auf diese Weise eingehend prüfen.

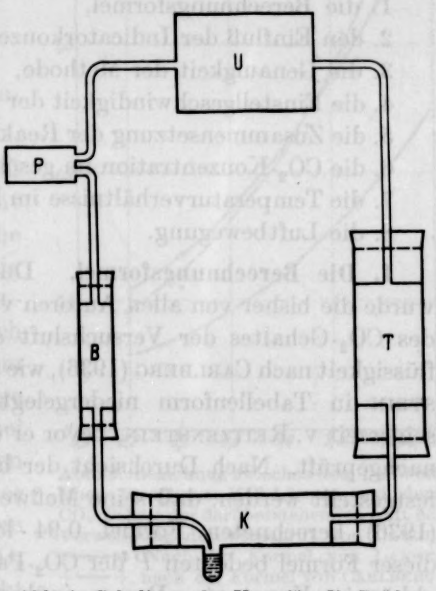


Abb. 1. Schaltung des Uras für die Prüfung der Colorimeter-Methode. *U* = Uras, *P* = Membranpumpe, *B* = Befeuchtungsturm, *K* = Cuvette mit Colorimeteransatz, *T* = Trocknungseinrichtung

Wir führten die Colorimetrie in verschiedenen Abwandlungen durch; sowohl nach den Angaben von v. REITZENSTEIN (1943), WALTER (1949) und ZELLER (1951), als auch nach der Vorschrift von LANGE 1956. So dienten als Reaktionsflüssigkeiten entweder 0,001 n $NaHCO_3$ allein oder mit einem Zusatz von 0,099 n KCl. Als Indicator verwendeten wir nur Kresolrot, das der Reaktionsflüssigkeit jeweils in der Menge zugesetzt wurde, wie es die einzelnen Autoren vorschrieben. Für die Colorimetrie waren Pufferserien als Vergleichslösungen notwendig. Wir verwendeten 3 verschiedene Puffergemische und zwar Borax-Phosphat nach KOLTHOFF, Borsäure-Borax nach PALITZSCH und Phosphatpuffer nach SÖRENSEN, jede nach den Vorschriften, wie sie bei KOLTHOFF (1932) und STEINER (1940) beschrieben sind. Die Puffer prüften wir elektrometrisch und korrigierten sie entsprechend.

[1] Der Uras, eine Leihgabe der DFG an das Geologische Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim, wurde uns von Herrn Prof. Dr. L. MEYER freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Wir möchten ihm dafür auch an dieser Stelle recht herzlich danken. Ebenso Herrn Priv.-Doz. Dr. KÖPF und Herrn Dr. SUNKEL für die erste Einführung in die Handhabung des Uras.

Durch die Verbindung der beiden Meßverfahren Uras/Colorimetrie war es möglich, den Aussagewert der meisten, bisher mit unserer Methode durchgeführten Arbeiten zu überprüfen. Alle Probleme, die im Zusammenhang mit der colorimetrischen CO_2-Bestimmung auftreten, sollen in der Folge besprochen werden. Nach den voraufgegangenen Arbeiten von FRENZEL und LANGE war es notwendig, eine Reihe methodischer Eigenschaften zu prüfen:

1. die Berechnungsformel,
2. den Einfluß der Indicatorkonzentration,
3. die Genauigkeit der Methode,
4. die Einstellgeschwindigkeit der Colorimeterfarbe,
5. die Zusammensetzung der Reaktionsflüssigkeit,
6. die CO_2-Konzentration im geschlossenen Gasraum,
7. die Temperaturverhältnisse im Kolben,
8. die Luftbewegung.

1. Die Berechnungsformel. Durch die Untersuchungen LANGEs wurde die bisher von allen Autoren verwendete Formel zur Berechnung des CO_2-Gehaltes der Versuchsluft aus dem p_H-Wert der Reaktionsflüssigkeit nach CARLBERG (1936), wie sie ZELLER (1951) nach v. REITZENSTEIN in Tabellenform niedergelegt hat, korrigiert. Nun hat aber seinerzeit v. REITZENSTEIN, bevor er die Methode anwandte, die Formel nachgeprüft. Nach Durchsicht der hinterlassenen Manuskripte konnte festgestellt werden, daß seine Meßwerte tatsächlich der von CARLBERG (1936) berechneten Formel $0{,}94 \cdot \log P = a - p_H$ entsprachen. In dieser Formel bedeuten P der CO_2-Partialdruck und a eine temperaturabhängige Konstante. Demgegenüber hat LANGE mit einer verbesserten Methodik (elektrometrische p_H-Bestimmungen) eine neue Formel aufgestellt, bei deren Benützung die entsprechenden CO_2-Mengen je p_H-Einheit wesentlich höher liegen. Mit Hilfe des Uras in der bereits angegebenen Schaltung war es leicht möglich, die Richtigkeit der von beiden angegebenen Werte zu prüfen.

Verfahren: Uras in Kreislaufschaltung, Empfindlichkeit 0,1 vol-% CO_2 bei Vollausschlag.

Colorimetrie, 0,001 n $NaHCO_3$ + 0,099 n KCl, Indicator 0,001% Kresolrot, Meßbereich 7,3—8,2 p_H, ohne Neutralisation des Indicators, Sörensenpuffer in entsprechender Färbung und Schichtdicke als Vergleichslösung.

Versuchstemperatur 20°C ± 1°C.

Ergebnis. Das Ergebnis ist in Abb. 2 dargestellt. Wie man sieht, liegen die Meßpunkte des Uras tatsächlich bei der Kurve, wie sie sich aus der Langeschen Arbeit ergibt. Die Uraswerte zeigen eine geringe Abweichung im Anstieg der resultierenden Kurve. Eine genaue Begründung können wir hierfür nicht angeben. Da in unserer Darstellung die Menge CO_2/l in Abhängigkeit vom p_H der Bicarbonatlösung auf-

getragen ist, bedingen geringe Unterschiede in der p_H-Messung (vor allem bei der Eichung der Pufferserien) ebenso Fehler bei den Endwerten wie Unstimmigkeiten bei der Eichung des Uras. Die Langesche Kurve liegt jedoch noch im Streubereich meiner Meßpunkte. Für eine weitere Verwendung der Methode in der hier noch zu beschreibenden Weise möchten wir daher die Langesche Formel

$$1{,}02 \cdot \log P = a - p_H$$

zur Berechnung von Kohlensäuremengen empfehlen.

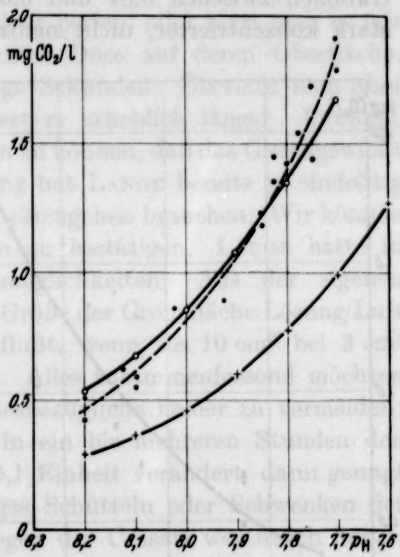


Abb. 2. Beziehung zwischen dem p_H-Wert einer Bicarbonat-KCl-Lösung und dem CO_2-Gehalt der darüberstehenden Luft bei Verwendung der Vorschrift von LANGE. o——o Nach der Formel von LANGE, +——+ nach der Formel von CARLBERG, ... Meßpunkte Uras/Colorimetrie. (p_H colorimetrisch, CO_2-Gehalt mit dem Uras gemessen). – – – – – Streufeldresultante der Meßpunkte

Nachdem sich gezeigt hatte, daß die Langeschen Befunde zu Recht bestehen, mußte nach der Ursache gesucht werden, die den völlig anderen Verlauf der Kurve bei CARLBERG und ihre Bestätigung durch v. REITZENSTEIN bedingt. Vor allem schien es erstaunlich, daß einige Autoren (vgl. ZELLER 1951) bei der Äquilibrierung mit der offenen Luft p_H-Werte finden, die bei einer Umrechnung nach der Carlbergschen Formel ungefähr 0,03 vol-% CO_2 ergeben würden, und somit indirekt das Ergebnis der v. Reitzensteinschen Nachprüfung bestätigen. Bei einem genaueren Vergleich der Arbeiten fiel nur ein Unterschied auf: die Menge des (nichtneutralisierten) Indicators, die der Reaktionsflüssigkeit zugegeben wurde.

2. Der Einfluß der Indicatorkonzentration. LANGE setzte pro Liter Reaktionslösung 10 mg Indicator zu. Bei dieser Farbdichte wäre eine Colorimetrie mit der älteren Kolbenkonstruktion (ohne angesetzte Cuvette) unmöglich gewesen. Wir haben das selbst mehrmals versucht; die Farben sind bei Schichtdicken von 2—3 mm, wie sie in einem Rundkolben von 500 cm³ und 3 cm³ Reaktionsflüssigkeit entstehen, so schwach, daß die Ablesung sehr ungenau wird. Deshalb haben wohl v. REITZENSTEIN und ZELLER die Lösung stärker gefärbt. Sie gaben 2—3 Tropfen einer 0,2%igen alkoholischen Lösung des Indicators zu ca. 3 cm³ Bicarbonatlösung. Wir können heute nur noch annähernd schätzen, wieviel Indicator verwendet wurde. Wenn ein Tropfen etwa

0,1 cm³ entspricht und 3 Tropfen zu 3 cm³ Reaktionslösung gegeben werden, so erhält man bei einer Stammlösung von 0,2% eine Endverdünnung von 0,02%. Das ist 20mal konzentrierter als bei LANGE. Wir haben daher den oben beschriebenen Versuch mit Indicatorkonzentrationen zwischen 0,01 und 0,03% wiederholt. Bei Verwendung so stark konzentrierter, nicht neutralisierter Indicatormengen zeigt sich tatsächlich eine Verlagerung der Meßwerte (Abb. 3). Es erscheint als Resultante im Streufeld der Meßpunkte die Kurve nach CARLBERG. Die Streuung der Werte ist viel größer als in Abb. 2, was nach der einmal gefundenen, starken Abhängigkeit der p_H-Messungen von der Indicatorkonzentration nicht anders zu erwarten ist. Damit wird festgestellt, daß in den Arbeiten nach der Vorschrift von V. REITZENSTEIN tatsächlich mit der Carlbergschen Formel gerechnet werden müßte. Unseres Erachtens ist aber eine Umrechnung der Einzelmessungen auf CO_2-Mengen wegen der starken Abweichung von der Standardkurve nicht möglich. Das ist jedoch für die Verwendung der Methode zu Bilanzmessungen ohne Belang. Dabei interessiert uns nämlich nur der Farbton, der die zu Beginn des Versuches vorhandene CO_2-Spannung anzeigt, nicht aber deren zahlenmäßige Höhe.

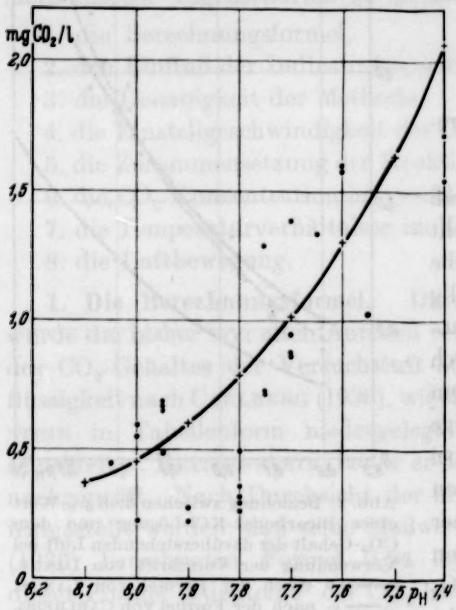


Abb. 3. Beziehung zwischen p_H-Wert einer Bicarbonat-KCl-Lösung und dem CO_2-Gehalt der darüberstehenden Luft bei Verwendung der von ZELLER und v. REITZENSTEIN ausgearbeiteten Vorschrift. +——+ Nach der Formel von CARLBERG, ····· Meßpunkte Uras/Colorimetrie

3. Die Genauigkeit der Methode. Je höhere Ansprüche wir an die Genauigkeit der Methode stellen, um so größeren Wert müssen wir auf die p_H-Messung legen. Am besten wäre es sicher, wenn man den p_H-Wert der Reaktionsflüssigkeit elektrometrisch bestimmen würde. Aber auch mit Hilfe der Colorimetrie sind bei ökologischen Untersuchungen Unterschiede von 0,05 p_H noch gut meßbar. Da die Beziehung zwischen p_H-Wert und Kohlensäurespiegel logarithmisch ist, bedeutet das eine hohe Genauigkeit bei p_H 8,2 und eine minder gute Genauigkeit bei p_H 7,3 (das sind die Grenzen des Meßbereiches mit Kresolrot). Bei Untersuchungen über die CO_2-Tagesbilanz arbeiten wir mit Werten,

die nahe bei p_H 8,0, also im genauesten Teil der Kurve liegen. Dagegen werden bei Atmungsmessungen auch die niedrigeren p_H-Werte benötigt.

4. Die Einstellgeschwindigkeit der Colorimeterfarbe. Es dauert eine gewisse Zeit, bis sich eine veränderte CO_2-Konzentration der Versuchsluft mit der Reaktionsflüssigkeit ins Gleichgewicht gesetzt hat. Läßt man das Gas durch die Flüssigkeit perlen, oder bläst man es mit hoher Geschwindigkeit aus einer feinen Düse auf deren Oberfläche, dann dauert der Ausgleich nur wenige Sekunden. Überläßt man aber den Vorgang der Diffusion, so dauert er erheblich länger. FRENZEL glaubte aus seinen Versuchen schließen zu können, daß das Gleichgewicht nie erreicht würde. Diese Behauptung hat LANGE bereits so eindeutig widerlegt, daß wir darauf nicht näher einzugehen brauchen. Wir können uns damit begnügen, seine Angaben zu bestätigen. LANGE hatte in dieser Hinsicht die besseren Meßmöglichkeiten. Aus der eigenen Erfahrung können wir sagen, daß die Größe der Grenzfläche Lösung/Luft die Austauschgeschwindigkeit beeinflußt, wenn sie 10 cm^2 bei 3 cm^3 Flüssigkeit wesentlich unterschreitet. Alles zusammenfassend möchten wir folgende Regel aufstellen, um diesbezügliche Fehler zu vermeiden: Wenn der CO_2-Umsatz im Kolben in ein bis mehreren Stunden den p_H-Wert der Bicarbonatlösung um 0,1 Einheit verändert, dann genügt zur letzten Sicherung ein mehrmaliges Schütteln oder Schwenken der Lösung im Versuchskolben; ist dagegen der Umsatz wesentlich höher, etwa 0,1 p_H/$^1/_4$ Stunde, dann müssen wir schon mindestens 2—3 Minuten schütteln, um die End-Färbung zu erreichen. Bei so hohen Umsätzen erreicht die Methode nicht mehr die volle Genauigkeit; das Problem läßt sich aber leicht durch ein geeignetes Verhältnis von Pflanzengröße zu Gefäßvolumen umgehen.

5. Die Zusammensetzung der Reaktionsflüssigkeit. Die von KAUKO und CARLBERG angegebene Reaktionslösung enthält 0,001 n $NaHCO_3$ und 0,099 n KCl. Aus dieser Kombination hatte v. REITZENSTEIN das KCl fortgelassen. FRENZEL und LANGE weisen erneut auf die Notwendigkeit des KCl in der Lösung hin, wenn das Kaukosche Prinzip (1934) stimmen soll. Was v. REITZENSTEIN bewogen hat, das KCl fortzulassen, ist aus seinen Manuskripten nicht mehr zu ersehen. Die Prüfung der Methode hat er jedenfalls noch mit KCl-Zusatz durchgeführt. Erst in späteren Aufzeichnungen und in einem zum Druck vorbereiteten Manuskript findet sich die Notiz, daß das KCl überflüssig sei. Wir haben daher so, wie unter 1 geschildert, eine 0,001 n Bicarbonatlösung mit 0,02% Indicatorzusatz in den Uraskreislauf geschaltet. Die Prüfung ergab, daß im Bereich von p_H 7,9—8,1 eine relativ gute Übereinstimmung zwischen Uras und Colorimeterwerten vorhanden war, die aber bei niedrigeren p_H-Werten immer schlechter wurde. v. REITZENSTEIN hat die Methode in bezug auf Bilanzmessungen beurteilt. Für ihn war

daher nur die Spanne von 7,8—8,1 wichtig. Wir nehmen an, daß er schon gewußt hat, daß seine Angaben nur für diesen Bereich gelten; er hat es aber nirgends erwähnt. Durch die Abänderung der Methode in diesem Punkte werden bei den späteren Autoren nur die Zahlenwerte über Assimilations- und Respirationsintensität, nicht aber die Angaben über die Lage des CO_2-Bilanzpunktes entwertet.

Damit sind die wesentlichen Fehlerquellen, soweit es die Meßtechnik anbelangt, nachgeprüft. FRENZEL hat aber noch folgendes kritisiert:

6. Die CO_2-Konzentration im geschlossenen Gasraum. Die colorimetrische CO_2-Bestimmung arbeitet im geschlossenen Gasraum, wenn sie für Bilanzmessungen verwendet wird. Darin unterscheidet sie sich von den meisten anderen Methoden der ökologischen Assimilationsuntersuchungen. Im Verlauf eines Versuches ändert sich die CO_2-Menge der Versuchsluft in dem Maße, wie die eingeschlossene Pflanze atmet oder assimiliert. Richtig sind aber a priori bei ruhiger Luft nur die Werte, die bei 0,03 vol-% CO_2, dem normalen Kohlensäureanteil, gewonnen wurden. Wir müssen also für höhere und niedrigere CO_2-Spiegel erst prüfen, ob die Atmungs- und Assimilationsintensität gleichbleibt. ÅLVIK, der die Methode in die Ökologie eingeführt hat, war der Ansicht, man solle diesen Faktor nicht überschätzen. Aus Untersuchungen von LUNDEGÅRDH (1924), MÜLLER (1928), EGLE und SCHENK (1953) und vielen anderen hingegen wissen wir, daß unter bestimmten Lichtverhältnissen bei vielen Pflanzen die Assimilationsintensität mit zunehmender CO_2-Konzentration gesteigert wird.

Da der Uras im Kreisschluß hinsichtlich der CO_2-Schwankung den gleichen Bedingungen unterworfen ist wie unsere Methode, können wir die so gewonnenen früheren Ergebnisse auf unsere Methode beziehen. Besonders sind hier wieder die Untersuchungen von EGLE und SCHENK (1953) wichtig. Übereinstimmend mit den oben genannten Autoren finden sie, daß sich die Assimilationsintensität mit der Beleuchtungsstärke und der CO_2-Konzentration ändert. Darüber hinaus ist für die Beurteilung unserer Methode interessant, in welchem Ausmaß sich die Assimilationsintensität bei konstanter Beleuchtung bei den verschiedenen CO_2-Gehalten der Luft ändert. Alle dort abgebildeten Assimilationskurven lassen sich in drei große Abschnitte zerlegen, und zwar in den 1. Abschnitt, bei relativ hohen CO_2-Spannungen, in dem die Assimilationsleistung von der Kohlensäurekonzentration unbeeinflußt erscheint, d.h. die in der Zeiteinheit aufgetragene Abnahme der vol-% CO_2 verläuft gradlinig; in den 2. Abschnitt, bei dem der Lichtkompensationspunkt erreicht ist, keine weitere Assimilation der Luftkohlensäure mehr gemessen wird und damit die Kurve ebenfalls gradlinig verläuft; und in den 3. Teil der Kurve, der die Abschnitte 1 und 2 miteinander verbindet (vgl. hierzu Abb. 4). Bei welcher CO_2-Konzentration

die 3 Abschnitte liegen, ist von der jeweils verwendeten Lichtstärke abhängig. Wegen der Bedeutung, die dieser Befund für unsere Methode hat, haben wir ihn nachgeprüft und zwar mit Hilfe des Uras an *Plantago maior*. Die registrierte CO_2-Abnahme eines abgeschlossenen Luftkörpers in der Zeiteinheit bei 1700 $Lx^{=}$, ist in Abb. 4 dargestellt. Die drei Abschnitte sind gut zu erkennen.

Wenn wir Tagesbilanzmessungen durchführen, arbeiten wir bei Tageslicht und CO_2-Konzentrationen über 0,03 vol-%. Wir können daher den beschriebenen Befund nur dann richtig beurteilen, wenn wir wissen, in welchen CO_2-Spannungen sich die 3 Abschnitte bei den in Frage kommenden Lichtintensitäten bewegen. Um das zu prüfen, eignet sich unsere colorimetrische Methode ausgezeichnet. Man muß nur während eines Bilanzversuches Lichtintensität und Temperatur hinreichend konstant halten, dann ist die CO_2-Abnahme in der Zeiteinheit, gemessen an der p_H-Änderung, ein Maß für die Assimilationsintensität. Man erhält dabei die gleichen Kurven, wie wir sie vom Uras her gewohnt sind. Aus der Reihe der Versuche, die wir in dieser Richtung unternommen haben, sollen 2 als Beispiel herausgegriffen werden. Deren Ergebnisse sind in Abb. 5 wiedergegeben.

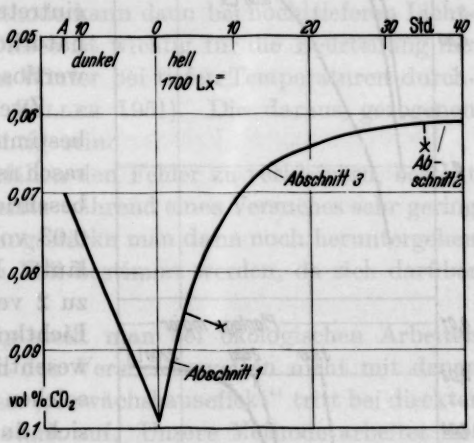


Abb. 4. Registrierung des CO_2-Umsatzes eines abgeschnittenen Blattes von *Plantago maior* mit dem Uras bei 20° C über 2 Tage hinweg

Verwendet wurden *Tradescantia viridis* als Typ einer Schattenpflanze und *Plantago maior* als Sonnenpflanze. Bei *Plantago maior* diente eine Quecksilberhöchstdrucklampe 400 W (Radium) zur Beleuchtung. Die Lichtstufen erreichten wir durch verschieden weites Aufstellen der Versuchskolben von der Lichtquelle. Die fertig beschickten Assimilationskolben wurden 11 Stunden im Dunkeln gelassen und dann belichtet, die CO_2-Abnahme im Kolben während der Belichtung stündlich verfolgt. In den Versuchen mit *Tradescantia* arbeiteten wir in der gleichen Weise. Da wir jedoch nicht so hohe Lichtintensitäten brauchten wie bei Plantago, verwendeten wir als Lichtquelle ein Leuchtstoffrohr HNT 40 (Osram).

Die Versuche ergaben dreierlei: Einmal können wir eine Vorstellung darüber gewinnen, welche Fehler wir unter Umständen bei Tagesbilanzmessungen machen können. Wir haben das einmal an Hand der dick

ausgezogenen Linie aus der Kurvenschar von *Plantago maior* berechnet. Im Bereich von 0,03 vol-% CO_2 werden pro Stunde 0,04 mg CO_2 reassimiliert, bei 0,09 vol-% dagegen 0,35 mg. Das ist 8,7 mal stärker. Unter unseren Versuchsbedingungen wurde der Bilanzpunkt nach $9^1/_2$ Stunden erreicht, da aber während $7^1/_2$ Stunden viel zu intensiv assimiliert wurde (richtig ist ja bei ruhiger Luft nur die Intensität bei 0,03 vol-%), würde er unter natürlichen Bedingungen erst nach 65 Stunden eintreten. Ein so großer Fehler macht natürlich die CO_2-Bilanzrechnung wertlos.

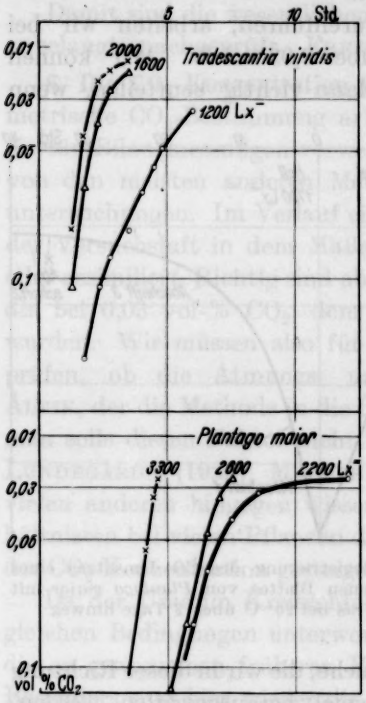


Abb. 5. Assimilationsintensität in Abhängigkeit von der CO_2-Konzentration der Luft und der Beleuchtungsstärke bei 20° C gemessen mit der Ålvik-Methode

Zweitens zeigt sich, daß von einer bestimmten Beleuchtungsstärke an so rasch assimiliert wird, daß der in Abb. 4 beschriebene Abschnitt 1 bis unter 0,03 vol-% CO_2 (fast gradlinig) verläuft. Der Übergang von Abschnitt 1 zu 2 verläuft dann sehr schnell. Der Lichtkompensationspunkt liegt immer wesentlich unter 0,03 vol-% CO_2. Bei solchen Beleuchtungsstärken stört die sich ändernde CO_2-Konzentration im Kolben nicht mehr.

Drittens sehen wir bei einem Vergleich der Kurvenscharen beider Pflanzen, daß die kritische Beleuchtungsstärke, bei der wir die Konzentrationsschwankungen des CO_2 vernachlässigen dürfen, jeweils verschieden ist. 2000 Lx^- bedingen bei *Tradescantia* den gleichen Kurvenverlauf wie 3300 Lx^- bei *Plantago*. Das war zu erwarten, da bei dem Versuchsmaterial von EGLE und SCHENK (1953) (*Chlorella*, *Pellia* und *Fegatella*) der gleiche Effekt aufgetreten war.

Damit wurde gezeigt, daß die variable CO_2-Spannung im Versuchskolben einen begrenzenden Faktor für die Methode der Tagesbilanzmessung nach ÅLVIK darstellt. Denn unter ökologischen Bedingungen, wenn Temperatur, Licht und Kohlensäure schwanken, ist es unmöglich, die Wirkung eines der Faktoren zu berechnen. Unsere bisherigen Erfahrungen können wir dahingehend zusammenfassen: Bis zu 5000 Lx abwärts ist die Anwendung der Methode generell unbedenklich; bis 3000 Lx nur noch für Schattenpflanzen und für Moose verwendbar und

darunter bis 1500 Lx nur für Thallophyten. Man sollte jedoch stets bei Beleuchtungsstärken unter 5000 Lx in der dargestellten Art prüfen, ob sich die Methode anwenden läßt oder nicht. In der Natur erreichen einige Standorte diese Lichtwerte während der ganzen Vegetationsperiode nicht. An den dort lebenden Pflanzen sind mit unserer Methode keine Bilanzversuche durchführbar. Wir werden im Zusammenhang mit der Anwendung der Methode bei einigen ökologischen Problemen noch einmal darauf zu sprechen kommen.

Nach Müller (1928) spielt die CO_2-Konzentration bei Temperaturen unter 5°C keine Rolle. Die Methode kann dann bei noch tieferen Lichtwerten angewendet werden. Dieses ist wichtig für die Beurteilung der Ergebnisse aus Arbeiten, die im Winter bei tiefen Temperaturen durchgeführt wurden (Ålvik 1939, Zeller 1951). Die daraus gezogenen Schlußfolgerungen dürften richtig sein.

Eine Möglichkeit, in Grenzfällen den Fehler zu verkleinern, besteht darin, daß man den Gesamtumsatz während eines Versuches sehr gering hält. Bis zu welcher Beleuchtungsstärke man dann noch heruntergehen kann, muß für jeden einzelnen Fall bestimmt werden, da sich darüber keine Regeln aufstellen lassen.

7. Die Temperatur. Häufig stellt man bei ökologischen Arbeiten fest, daß die Temperaturen in den Versuchscuvetten nicht mit denen der Luft übereinstimmen. Dieser „Gewächshauseffekt" tritt bei direkter Sonnenbestrahlung besonders stark auf. Unsere Methode arbeitet mit stehendem Luftkörper hoher Luftfeuchte und ist daher in dieser Beziehung sehr anfällig. Das Problem der Temperaturerhöhung tritt aber bei den anderen Methoden der Assimilationsbestimmung ebenfalls auf, auch wenn sie keine Möglichkeit bieten, Bilanzversuche anzustellen. Im übrigen möchten wir uns der Meinung Langes anschließen, daß die Methode unbrauchbar ist, wenn es nicht gelingt, die Kolbentemperatur in der notwendigen Weise zu regulieren, daß es aber eine Reihe von Problemen gibt, bei deren Bearbeitung sich keine Überhitzung in den Kolben bemerkbar macht. Ganz bestimmt trifft das für physiologische Arbeiten zu, bei denen es meist gelingt, die Temperatur in engeren Grenzen konstant zu halten. Wenn man die Methode in der hier und bei Lange (1956) beschriebenen Art handhabt, dürfte sie sich für die Bearbeitung bestimmter physiologischer Probleme durchaus anwenden lassen.

8. Die Luftbewegung. Deneke (1931) hat darauf hingewiesen, daß die Assimilationswerte bei ruhendem Luftkörper geringer sind als diejenigen, die bei höheren Windgeschwindigkeiten gemessen werden. Seine Schlußfolgerungen wurden durch die schon mehrfach zitierte Arbeit von Egle und Schenk bestätigt. Jedoch geht aus den Versuchsergebnissen und Überlegungen dieser Autoren hervor, daß die Bedeutung,

die das Phänomen bei Assimilationsversuchen erlangen kann, von der Cuvettenform, und dem Verhältnis von Pflanzenmasse zu Cuvettenvolumen abhängt. In bezug auf die hier untersuchte colorimetrische Methode ist daher der Einfluß dieses Faktors noch nicht zu klären. Uns selber fehlen leider z. Zt. die apparativen Voraussetzungen für solche Versuche, so daß wir uns über die Ergebnisse der genannten Autoren hinaus kein Urteil erlauben können. Daraus läßt sich für unsere Methode schließen, 1. daß der Einfluß des Faktors um so geringer wird, je kleiner der die Pflanze umgebende Luftraum gewählt wird; und 2. daß der Faktor für unsere Methode nur eine geringe Bedeutung haben kann, solange wir den Tagesbilanzpunkt im Bereich von 0,03 vol. % CO_2 messen.

Die Bedeutung der Prüfergebnisse für die Anwendung der Methode

1. Bei Bilanzmessungen. In den Arbeiten, in denen Tagesbilanzen mit der colorimetrischen Methode nach ÅLVIK bestimmt werden, erscheint als Ergebnis nur der Tagesbilanzpunkt (Tageskompensationspunkt) angegeben in Stunden nach Sonnenaufgang. Damit entziehen sich die Arbeiten, falls sie in einen kritischen Licht- und Temperaturbereich fallen, einer Beurteilung. Am Botanischen Institut Hohenheim wurden jedoch in den vergangenen Jahren einige ökologische Arbeiten durchgeführt, an denen Grenzen und Möglichkeiten der Bilanzversuche mit unserer Methode untersucht werden können. In Abb. 6 sind eine Reihe von Einzelversuchsergebnissen wiedergegeben, die der Staatsexamensarbeit von SIEB (1954) entnommen wurden. SIEB untersucht in dieser Arbeit die Tagesbilanz einiger Pflanzen aus der Krautschicht eines Buchenwaldes während des ganzen Jahres. Er wendete die Methode nach der Beschreibung von WALTER (1951) und ZELLER (1951) an. Seine Kolben besaßen jedoch einen seitlichen Ansatz, in den die Reaktionsflüssigkeit zum Ablesen gebracht werden konnte. Das Licht wurde mehrmals am Tage mit einem Luxmeter gemessen; die Temperatur in regelmäßigen Abständen, sowohl im Kolben als auch in der Luft bestimmt.

In Abb. 6 sind jeweils 3 Tagesbilanzbestimmungen von *Anemone hepatica* und *Fragaria vesca* nebeneinander dargestellt. Für jeden Tag sind angegeben: oben die Tageszeit; darunter die Beleuchtungsstärke, obere Linie — Einstrahlung gemessen an einer offenen Stelle, untere Linie — Einstrahlung am Standort, dargestellt in logarithmischer Skalenteilung; darunter die Temperatur im Kolben in °C; darunter der Tagesgang der Assimilation, colorimetrisch bestimmt, und umgerechnet auf mg CO_2/l Versuchsluft im Kolben. Für diese letzteren Werte gelten die im voraufgegangenen Kapitel unter 1 und 2 angeführten methodischen Einschränkungen. Sie sind daher nur als Relativwerte aufzufassen. Für unseren Zweck ist das jedoch ohne Belang, da wir nur die Überführung der Meßwerte (p_H) von einem logarithmischen zum linearen Maßstab (mg CO_2/l) und in diesem den genauen Skalenwert brauchen, bei dem angezeigt wird, daß die Atmungskohlensäure der Nacht wieder reassimiliert wurde.

Wenn wir uns die Figuren betrachten, dann fällt an ihnen sofort der sehr unterschiedliche Kurvenverlauf in Abhängigkeit von mehr oder weniger starker Belichtung des Versuchsmaterials auf. Ohne Kenntnis der oben geschilderten Prüfungsversuche würde uns das vielleicht nicht

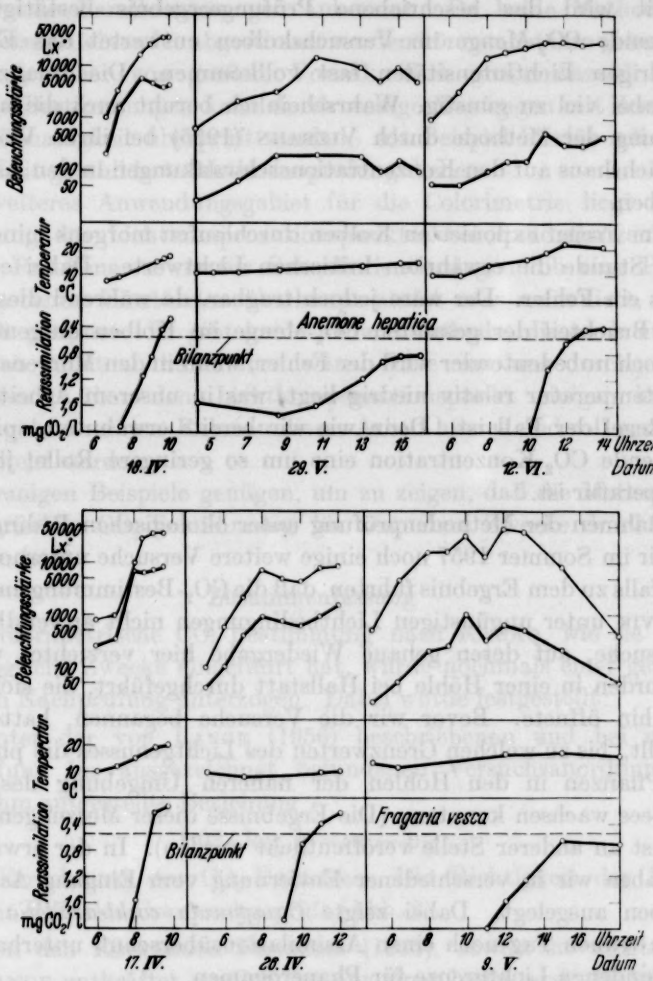


Abb. 6. CO_2-Bilanzmessungen mit der Ålvik-Methode an Waldpflanzen am Standort bei hohen und niedrigen Beleuchtungsstärken. Weitere Erläuterungen s. im Text. (Nach Sieb 1954)

bemerkenswert erscheinen, da ja die Bedingungen im Freien stark variieren können. Bei näherem Hinsehen lassen sich die Kurven in 2 Gruppen trennen; solche, die bis zum Bilanzpunkt hin gradlinig verlaufen, und solche, die sich ihm parabolisch nähern. Vergleicht man bei beiden Gruppen die Versuchsbedingungen, so erkennt man, daß

sich gradlinige Kurven bei Beleuchtungsstärken am Standort von über 5000 Lx· und parabolische bei geringerer Helligkeit ergeben. Besonders gut sieht man das an den Meßwerten von *Fragaria vesca* am 17. 4. und 26. 4.

Damit wird das beschriebene Prüfungsergebnis bestätigt. Die schwankende CO_2-Menge im Versuchskolben entwertet das Ergebnis bei niedrigen Lichtintensitäten fast vollkommen. Die Bilanzpunkte liegen dabei viel zu günstig. Wahrscheinlich beruht auch die negative Beurteilung der Methode durch VIEBAHN (1955) bei ihren Versuchen im Gewächshaus auf den Konzentrationsschwankungen in den Assimilationskolben.

Die im Freien exponierten Kolben durchlaufen morgens mindestens für eine Stunde die erwähnten kritischen Lichtwerte. Dabei entsteht ebenfalls ein Fehler. Der wäre jedoch tragbar, da während dieser Zeit nur ein Bruchteil der gesamten CO_2-Menge im Kolben aufgenommen wird. Noch unbedeutender wird der Fehler, wenn in den Morgenstunden die Lufttemperatur relativ niedrig liegt, was in unserem Arbeitsgebiet in der Regel der Fall ist. Denn wie wir bereits erwähnten, spielt die schwankende CO_2-Konzentration eine um so geringere Rolle, je tiefer die Temperatur ist.

Im Rahmen der Methodenprüfung unter ökologischen Bedingungen haben wir im Sommer 1957 noch einige weitere Versuche unternommen, die ebenfalls zu dem Ergebnis führten, daß die CO_2-Bestimmungsmethode nach ÅLVIK unter ungünstigen Lichtbedingungen nicht anwendbar ist. Die Versuche, auf deren genaue Wiedergabe hier verzichtet werden kann, wurden in einer Höhle bei Hallstatt durchgeführt, die sich nach Norden hin öffnete. Bevor wir die Versuche begannen, hatten wir festgestellt, bis zu welchen Grenzwerten des Lichtgenusses die phanerogamen Pflanzen in den Höhlen der näheren Umgebung des Hallstätter Sees wachsen konnten. (Die Ergebnisse dieser Messungen sollen demnächst an anderer Stelle veröffentlicht werden). In der erwähnten Höhle haben wir in verschiedener Entfernung vom Eingang Assimilationskolben ausgelegt. Dabei zeigte *Campanula cochleariifolia* selbst an einem trüben Tag noch einen Assimilationsüberschuß unterhalb der sonst gefundenen Lichtgrenze für Phanerogamen.

2. Bei sonstigen Verwendungen. Neben der Anwendung der Methode für Bilanzmessungen sind noch einige andere Möglichkeiten gegeben sie zu benutzen. Es wurde bereits erwähnt, daß die Ålviksche Methode, wie wir sie oben geschildert haben, wie der Uras im Kreisschluß arbeitet. Von dieser Überlegung ausgehend haben ČATSKÝ und SLAVIK (1958) wohl die dem Uras entsprechende Anordnung konstruiert. Da man aber bei der colorimetrischen Methode nicht die Genauigkeit des Uras erreichen kann, ist sie in der von ČATSKÝ und SLAVIK beschriebenen Anordnung

nur beschränkt verwendbar. Wir möchten daher die kombinierte Anwendung der Ålvik-Methode mit dem Uras empfehlen. Mit dem Uras in Kreislaufschaltung kann man jeweils nur eine Pflanze bearbeiten. Deshalb ist die colorimetrische Methode überall dort überlegen, wo es auf zahlreiche Parallelmessungen ankommt. Da beide Methoden in idealer Weise aufeinander abgestimmt werden können, ist ihre gekoppelte Anwendung sicher von großem Vorteil. Eine große Anzahl colorimetrischer Bestimmungen kann durch wenige Messungen mit dem Uras auf ihre Genauigkeit überprüft werden. Als Beispiel hierfür soll die in dieser Arbeit geschilderte Methodenprüfung dienen.

Ein weiteres Anwendungsgebiet für die Colorimetrie liegt in der Bestimmung des Lichtkompensationspunktes bei Landpflanzen. Für derartige Probleme, sowie für Schnellorientierungen, ob eine Pflanze unter gegebenen Umständen überhaupt atmet oder assimiliert, ist sie vorzüglich geeignet. Es gibt keine andere Methode, die auch nur annähernd so leicht zu handhaben wäre. Eine von uns durchgeführte Untersuchung über den Lichtkompensationspunkt einiger hundert Pflanzen geht über den Rahmen dieser Arbeit hinaus und soll gesondert veröffentlicht werden.

Die wenigen Beispiele genügen, um zu zeigen, daß die Methode der colorimetrischen CO_2-Bestimmung für besondere Zwecke durchaus zu empfehlen ist.

Zusammenfassung

Die colorimetrische CO_2-Bestimmung nach Kauko, wie sie Ålvik für ökologische Zwecke eingeführt hat, wurde nochmals einer genauen, kritischen Nachprüfung unterzogen. Dabei wurde festgestellt:

1. Unter der von Lange (1956) beschriebenen und bei unserer Nachprüfung für ausgezeichnet befundenen Versuchsanordnung gilt die von ihm aufgestellte Beziehung

$$1{,}02 \cdot \log P = a - p_H$$

für die Errechnung des CO_2-Umsatzes. Die Richtigkeit der Formel wurde mit Hilfe des Uras nachgeprüft (Abb. 2).

2. Von den Einwänden Frenzels (1955), soweit sie nicht schon durch Lange entkräftet wurden, ist nur einer bedeutend, die während des Versuches im Assimilationskolben schwankende CO_2-Konzentration. Diese Versuchseigenart, in Verbindung mit Beleuchtungsstärke und Temperatur begrenzt die Methode tatsächlich in ihrer Verwendungsmöglichkeit. Da sich die Assimilationsintensität mit dem CO_2-Gehalt der Luft stark ändert, aber nur die Intensität in der Nähe von 0,03 vol-% den natürlichen Bedingungen entspricht, wird der Tagesbilanzpunkt (das ist die Zeit, in der die über Nacht von der Pflanze ausgeschiedene Atmungskohlensäure wieder reassimiliert wird) bei der Ålvik-Methode

zu günstig gemessen (Abb. 4, 5 und 6). Dieser Fehler macht sich bei geringeren Lichtintensitäten stärker bemerkbar als bei hohen, weil wir bei der Bilanzmessung die Assimilierung einer bestimmten, begrenzten CO_2-Menge in der Zeiteinheit messen. Die zur Assimilation notwendige Zeit wird daher bei hohen Lichtstärken soviel kürzer als bei niedrigen, daß der absolute Fehler bei der Zeitbestimmung um so geringer wird, je besser man belichtet, obwohl nach dem Gesetz der Minimumfaktoren der relative Fehler größer werden müßte. Deshalb besteht für die Verwendungsmöglichkeit der colorimetrischen Methode eine untere Lichtgrenze, unterhalb der sie keine brauchbaren Ergebnisse mehr liefert. Die Grenzen liegen etwa für Sonnenpflanzen bei 5000 Lux, für Schattenpflanzen bei 3000 Lux und für Thallophyten bei 1500 Lux. Unterhalb dieser Grenzen muß vom Gebrauch der Methode abgeraten werden. Im Grenzgebiet ist es ratsam, durch Voruntersuchungen die Größe des zu erwartenden Fehlers zu ermitteln.

3. Hinsichtlich der Verwendungsmöglichkeit der colorimetrischen CO_2-Bestimmung nach KAUKO wird darauf hingewiesen, daß sie sich sehr gut dazu eignet, den Lichtkompensationspunkt bei Landpflanzen zu bestimmen.

Herrn Prof. Dr. H. WALTER danke ich für die stete Förderung der Arbeit. Der DFG danke ich für die Bereitstellung einiger Apparate.

Literatur

ÅLVIK, G.: Über Assimilation und Atmung einiger Holzgewächse im westnorwegischen Winter. Meddel. Nr. 22 fra Vestl. Forstl. Forsøkst. **6/4**, 266 S. (1939). — AUDUS, L. J.: The effect of illumination on the respiration of shoots of the cherry laurel. Ann. Bot. **11**, 165—201 (1947). — CARLBERG, J. J.: Bestämming av p_H-värdet utspädda bikarbonatlösningar vid olika CO_2-tryk. Acta forest. fenn. **42/3**, 81 S. (1936). — ČATSKÝ, J., u. B. SLAVIK: Eine neue Anwendung der CO_2-Bestimmung nach KAUKO zu Assimilationsmessungen. Planta (Berl.) **51**, 63—69 (1958). — DENEKE, H.: Über den Einfluß bewegter Luft auf die Kohlensäureassimilation. Jb. wiss. Bot. **74**, 1—32 (1931). — EGLE, K., u. W. SCHENK: Die Anwendung des Ultrarotabsorptionsschreibers in der Photosyntheseforschung. Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 181—197 (1951). — Untersuchungen über die Reassimilation der Atmungskohlensäure bei der Photosynthese der Pflanzen. Beitr. Biol. Pflanz. **29**, 75—105 (1953). — FRENZEL, B.: Einige Bemerkungen zu der CO_2-Bestimmungsmethode nach ÅLVIK. Planta (Berl.) **46**, 447—466 (1955). — GABRIELSEN, E. K.: Photosynthesis in leaves at very low carbon dioxyde concentrations. Nature (Lond.) **163**, 359—360 (1949). — HARDER, R.: Bemerkungen über die Variationsbreite des Kompensationspunktes beim Gaswechsel der Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **41**, 194—198 (1923). — HOSOKAWA, T., and N. ODANI: The daily compensation period and vertical ranges of epiphytes in a beech forest. J. Ecol. **45**, 901—915 (1957). — KAUKO, Y.: Mathematische und graphische Behandlung des Gleichgewichtes Base—Kohlensäure—Wasser bei den verdünnten Lösungen. Ann. Acad. Sci. fenn. A **39**, 1—83 (1934). — KAUKO, Y., u. J. J. CARLBERG: Praktische Ausführung der Kohlensäurebestimmung in Gasgemischen mit Hilfe von p_H-Messungen. Z. anal.

Chem. **102**, 393—407 (1935). — KOEPF, H.: Die Verwendung des Ultrarotabsorptionsschreibers für die kontinuierliche Registrierung der Bodenatmung im Freiland. Landw. Forsch. **5**, 54 (1953). — KOLTHOFF, I. M.: Säuren—Basen—Indikatoren. Berlin 1932. — LANGE, O. L.: Zur Methodik der kolorimetrischen CO_2-Bestimmung nach ÅLVIK. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 49—60 (1956). — LUNDEGÅRDH, H.: Der Kreislauf der Kohlensäure in der Natur. Jena 1924. — Klima und Boden in ihrer Wirkung auf das Pflanzenleben. Jena 1957. — MÜLLER, D.: Die Kohlensäureassimilation bei arktischen Pflanzen und die Abhängigkeit der Assimilation von der Temperatur. Planta (Berl.) **6**, 22—39 (1928). — NUERNBERGK, E. L.: Das Wirkungsspektrum des Photoperiodismus und formativen Effektes. Zur Technik der Strahlungsmessungen. Z. Bot. **42**, 247—282 (1954). — PLÄTZER, H.: Untersuchungen über die Assimilation und Atmung von Wasserpflanzen. Diss. d. Univ. Würzburg 1917. — REITZENSTEIN, H. v.: Über die CO_2-Assimilation der Pflanzen im Winter. Unveröff. Manuskr. 1943. — RHEINHEIMER, G.: Über die Standorte der Moosvegetation in Nadelholzforsten bei Hamburg. Mitt. Staatsinst. allg. Bot. Hamburg B **11**, 89—136 (1957). — SIEB, K.: Untersuchungen über die Verschiebung des Tageskompensationspunktes bei Schattenpflanzen mit zunehmender Belaubung des Waldes. Staatsexamensarbeit d. T. H. Stuttgart 1954. — STEINER, M.: Herstellung und Prüfung geeigneter Reaktionsbedingungen. In: Die Methoden der Fermentforschung, S. 761—833. Leipzig 1940. — VIEBAHN, G.: Assimilation und Atmung tropischer Gewächshauspflanzen im Sommer und Winter. Diss. d. T. H. Darmstadt 1956. — WALTER, H.: Über Assimilation und Atmung der Pflanzen im Winter bei tiefen Temperaturen. Ber. dtsch. bot. Ges. **62**, 47—50 (1949). — Grundlagen der Pflanzenverbreitung, Bd. III, S. 360. Stuttgart 1951. — ZELLER, O.: Über Assimilation und Atmung der Pflanzen im Winter bei tiefen Temperaturen. Planta (Berl.) **39**, 500—526 (1951).

Dr. H. LIETH,
Botanisches Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule
Stuttgart-Hohenheim

Planta, Bd. 51, S. 722—756 (1958)

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung,
Abteilung für Plasmavererbung, Köln-Vogelsang

UNTERSUCHUNGEN ZUR MUTATION PLASMATISCHER ERBTRÄGER, BESONDERS DER PLASTIDEN*

II. Teil**

Von

P. MICHAELIS

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. Februar 1958)

A. Die in den Versuchen aufgetretenen Plastiden-Abänderungen

I. Zur Untersuchungsmethode

Einer Plasma- oder Plastidenmutation folgt in fast allen Fällen eine Umkombination der mutierten Einheiten, wobei der Verlauf dieser Umkombination entscheidende Hinweise über die Art und Lokalisation der Mutation geben kann. In den meisten Fällen genügt es daher nicht, eine *albomaculatum*-Pflanze zu einem bestimmten Zeitpunkte oder ein einzelnes gemustertes Blatt zu untersuchen. Nach Möglichkeit sollte der gesamte Ablauf der Umkombination vom ersten Auffinden der Mutante bis zur völligen Homoplasmonie der Zellen verfolgt werden. Im Verlauf einer solchen Untersuchung werden cytologisch die Entmischungsverhältnisse in den Zellen, an Hand der Blattmusterung wird die Anordnung der abgeänderten Zellen und Zelldeszendenzen festgestellt. Zuerst erschien es wünschenswert, die verschiedenen Abänderungstypen und die für sie charakteristischen Umkombinationsvorgänge an möglichst vielen verschiedenen Schecken kennenzulernen und an sie die Untersuchungsmethoden anzupassen. Eine detaillierte Untersuchung muß aufgeschoben werden, bis die Entwicklungsgeschichte des Objektes genauer untersucht ist.

Besonderer Wert wurde auf die Auffindung der ersten Entmischungs*muster* gelegt. Von hier an wurden zum mindesten an allen Blättern der Hauptachse die Entmischungsmuster der Blattober- und -unterseite teils ohne Filter, teils mit starken Rotfiltern photographisch festgehalten. Wenn auf Grund der Entmischungsmuster bestimmte Phasen der Umkombination erwartet werden konnten, erfolgte eine mikroskopische Untersuchung. Auf alle Fälle wurden die Blätter der Schecke mikroskopisch untersucht: 1. sofort nach dem Auffinden der ersten gefleckten Blätter, 2. zum Höhepunkt der Entmischung, 3. an den Tragblättern der zu Kreuzungen verwendeten Blüten und 4. an den gescheckten Nachkommen der *albomaculatum*-Pflanzen. Das Auftreten neuer Farb- und Musterunterschiede gab stets Anlaß zu erneuter Untersuchung.

Für die *cytologische* Untersuchung wurden nur ausnahmsweise Blattquerschnitte verwendet. Um die Beziehung zwischen Blattmusterung und Zellzusammensetzung erkennen zu können, erfolgte die mikroskopische Untersuchung in der Flächenansicht möglichst großer ($^1/_2$—1 cm^2) Blattstücke vorher photographierter und gezeichneter Blätter, in denen die Intercellularenluft mittels Vakuuminfiltration

* Herrn Prof. Dr. Dr. O. RENNER zum 75. Geburtstage gewidmet.

** Fortsetzung des I. Teiles in dieser Zeitschrift.

durch eine isotonische Rohrzuckerlösung ersetzt wurde. In einzelnen Fällen erwies es sich als günstiger, geringere Konzentrationen, eine Nährlösung ohne Zucker oder Leitungswasser zu verwenden, da sehr geringe Plastidenunterschiede durch eine schwache selektive Schädigung der Plastiden verstärkt und besser sichtbar gemacht werden können. Bei länger andauernder Untersuchung stört dann auch die Gasentwicklung durch Assimilation weniger. Die Epidermis hindert bei der Untersuchung der darunterliegenden Zellschichten nur an stark behaarten Freilandpflanzen, kaum aber an Gewächshauspflanzen. Unschärfen, die an Mikrophotographien durch die Mehrschichtigkeit der Blätter entstehen, mußten in Kauf genommen werden. Vitalfärbungen und Untersuchung fixierten Materials wurden nur ausnahmsweise und zusätzlich durchgeführt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Plastiden für genetische Probleme entstehen Schwierigkeiten dadurch, daß einerseits in den Schecken und ihren Nachkommen Neumutationen entstehen können, andererseits sich aber die Plastidenunterschiede in Zellen verschiedenen Alters, in verschiedenen Geweben und Entwicklungsphasen der Pflanze und unter verschiedenen Umweltsbedingungen sehr verschieden manifestieren. Bei der Mehrzahl der beobachteten *albomaculatum*-Pflanzen wird nicht die Plastiden-Entwicklung in bestimmten Stadien unterbrochen. Bei der Mehrzahl der Schecken sind in jungen Blättern von 0,5—2 cm^2 Größe normale und abgeänderte Plastiden sehr ähnlich ausgebildet. Sie sind häufig gleich groß und beide grün gefärbt. Die Unterschiede zwischen normalen und abgeänderten Plastiden entwickeln sich in der Regel erst im Laufe der Fertigstellung und Alterung des Blattes durch eine Degeneration der abgeänderten Plastiden. Die Art der Degeneration ist bei vielen Plastidenabänderungen sehr ähnlich. Die einzelnen Abänderungen unterscheiden sich vielfach nur in dem Zeitpunkt, zu dem die Degeneration einsetzt, in der Geschwindigkeit der Degeneration und in ihrer Beeinflußbarkeit durch die Umwelt. Ein und derselbe Plastidentyp kann daher in jungen und alten Blättern und unter verschiedenen Lebensbedingungen größere Unterschiede zeigen als zwei nebeneinander liegende Abänderungstypen.

Für die genetische Problemstellung war es nun wichtiger, bei den verschiedenen *albomaculatum*-Typen die Plastiden in vergleichbaren Blättern und unter gleichen Umweltsbedingungen, aber in den verschiedenen Entmischungsstadien aufeinanderfolgender Blattwirtel zu untersuchen als einen Plastidentyp in verschiedenen Entwicklungsstadien und unter verschiedenen Bedingungen. Es wurden daher an den gleichartig in einem Gewächshaus angezogenen Pflanzen stets Blätter untersucht, die gerade ihre volle Größe erreicht hatten, aber noch nicht gealtert waren. Verglichen wurden vor allem Plastiden der obersten Palisadenzellen. Die Plastiden des Schwammparenchyms waren meistens weniger gestört und abgeändert. Somatische Neumutationen wurden nur anerkannt, wenn sie in benachbarten Zellen eines einheitlichen Gewebes vorkamen. Die Plastidenentwicklung wurde nur in den Fällen untersucht, bei denen reichlich Seitenäste mit gescheckten Blättern zur Verfügung standen.

Besonders große Schwierigkeiten entstanden beim Vergleich der Keimpflanzen mit ihren Eltern vor allen Dingen, wenn die Keimpflanzen nur mit den vorjährigen Eltern verglichen werden konnten. Neumutationen ließen sich dann nur erkennen, wenn völlig andere Eigenschaften der Plastiden, völlig andere Mustertypen auf den Blättern oder ein anderer Entmischungsmodus (z. B. Zellen mit, resp. ohne Mischzellen) vorlagen. Eine gewisse Hilfe bietet der Vergleich gescheckter Keimpflanzen mit überwinterten Trieben der Mutter. Am sichersten ist der Vergleich, wenn die seltenen, in der Kreuzung normal grün ♀ × Schecke ♂ auftretenden gescheckten Sämlingspflanzen mit den gleichzeitig aufgezogenen Schecken verglichen werden können, die meistens in relativ großer Zahl durch mütterliche Vererbung aus der

Kreuzung Schecke ♀ × grün ♂ entstehen. Weiße, bald absterbende Sämlinge sind nur sehr schwer mit gescheckten Sämlingen zu vergleichen, da die weißen Keimpflanzen meistens absterben, bevor der für Mutter und gescheckte Geschwisterpflanzen typische Degenerationsgrad der Plastiden erreicht ist.

II. Die in den Versuchen entstandenen albomaculatum-Pflanzen

In den Mutationsversuchen waren 1955 94 *albomaculatum*-Pflanzen aufgetreten. Unter den Kreuzungsnachkommen dieser Pflanzen entstanden 1956 durch spontane Mutation 28 neue Schecken. Schließlich wurden in den verschiedensten Versuchen der Jahre 1953—1956 bei *Ep. hirsutum* noch weitere 50 *albomaculatum*-Pflanzen gefunden. Diese insgesamt 172 Schecken seien hier gemeinsam besprochen. Sie wurden in folgender Weise zu einzelnen Gruppen zusammengefaßt, um den Überblick zu erleichtern (vgl. Tabelle 6 MICHAELIS 1958).

1. *Frühzeitig eliminierte*, nicht genauer untersuchbare Scheckungen. An 44 Pflanzen traten nur an einem oder an einigen wenigen der ersten Laubblätter einzelne Flecke auf. An den Folgeblättern war die Scheckung schon wieder eliminiert, und es gelang auch nicht, durch mehrfaches Dekapitieren der Pflanzen gescheckte Seitensprosse zu erhalten. Da die gescheckten Blätter beim Auffinden der Pflanzen schon zu alt waren, unterblieb eine genauere cytologische Untersuchung. Da die Musterung auf den Blättern einen sehr geringen Umfang hatte und Kreuzungsversuche ausfielen, bleibt die Zuordnung dieser Gruppe zu den plasmatisch bedingten Schecken problematisch.

2. *Albomaculata* mit *sehr geringen* Plastidenunterschieden. Bei 37 Pflanzen trat eine typisch verschachtelte Musterung auf, doch waren die abgeänderten Blatteile nur etwas blasser grün. Mikroskopisch ließen sich die Plastiden des blaßgrünen Gewebes nicht sicher von den normalen Plastiden unterscheiden, so daß der Verteilungsmodus normaler und abgeänderter Plastiden, ebenso die Anordnung der abgeänderten Zellen nicht näher untersucht werden konnte. Ein Teil der Pflanzen war völlig steril und glich damit in vieler Beziehung der Plasmaabänderung *diversivirescens*, die am *Ep.-hirsutum-parviflorum*-Bastard häufig spontan aus der *irregulare*-Plasmonabänderung entsteht. Soweit die Fertilität reziproke Kreuzungen zuließ, wurde die Scheckung nur durch die Mutter vererbt.

Bei den restlichen 91 Schecken waren mikroskopisch mehr oder minder deutliche Unterschiede zwischen normalen und abgeänderten Plastiden festzustellen.

3. *Albomaculata* mit *nicht zufallsgemäßer* Anordnung der Flecken. Bei 3 Pflanzen mußte aus der nicht zufallsgemäßen Anordnung der Flecken (z. B. Spitzen- und Randlage) eine einseitige Wanderung der Erbträger bei einzelnen Zellteilungsfolgen angenommen werden. Über diese Pflanzen sei an anderer Stelle berichtet.

4. Pflanzen mit *Riesenplastiden*. Die hier zu besprechende Gruppe mit 10 Pflanzen fällt aus dem Rahmen der eigentlichen *albomaculata*. An ihnen ist die Blattfarbe nicht wesentlich verändert. Die abgeänderten Blatteile sind meistens nur an einer veränderten Lichtreflexion zu erkennen. Nur ein kleiner Teil der Mutanten wurde bei der makroskopischen Durchsicht der Pflanzen gefunden, und es ist damit zu rechnen, daß wegen der geringen Farbunterschiede weitere Mutanten übersehen wurden. Die Mehrzahl der hierher gehörenden Abänderungen wurde bei der mikroskopischen Untersuchung typischer *albomaculatum*-Schecken oder in *irregulare*-Pflanzen gefunden. Auf die Häufung mehrerer Plastiden-Abänderungen in 1 Pflanze soll an anderer Stelle eingegangen werden.

In keinem Falle konnte durch den Erbversuch bewiesen werden, daß die Riesenplastiden durch die Mutter vererbt werden, da die Sektoren mit Riesenplastiden vor der Blütenbildung eliminiert wurden. In 2 Fällen wurden echte Mischzellen, sogar triheteroplastomatische Zellen (Abb. 3) gefunden. Hier sind mit größter Wahrscheinlichkeit Plastom-Mutationen anzunehmen. In 4 Beispielen, in denen in einem eng umschriebenen Areal zahlreiche homoplastidisch abgeänderte Zellgruppen getrennt nebeneinanderlagen, ist eine Plasmonabänderung wahrscheinlich, wenn sich auch eine Chromosomenmutation nicht mit aller Sicherheit ausschließen läßt. Bei 4 Pflanzen, in denen nur 1 abgeänderte Zellgruppe, resp. 1 abgeänderter Sektor gefunden wurde, ist die Natur der Erbänderung völlig offen.

Die Plastidenvergrößerung kann ein sehr verschiedenes Ausmaß (Abb. 1—3) erreichen. In Pflanzen mit einer genügend großen Zahl homoplastidisch abgeänderter Zellen läßt sich feststellen, daß in der Regel eine feste Relation zwischen Plastidengröße und Plastidenzahl je Zelle besteht. In normalen Palisadenzellen liegen ca. 20—28, im Mittel ca. 25 Plastiden, in Schwammparenchymzellen von *Epilobium* 40—70, im Mittel 55 Plastiden je Zelle. Der mittlere Durchmesser der Plastiden beträgt 5.6 μ, ihre Dicke 2.8 μ. Bei 3 Pflanzen war die Plastidengröße bei einer etwas unregelmäßigeren Form auf 9.0 μ Durchmesser und 3.2 μ Dicke erhöht. Die Zahl der Plastiden war in den Palisadenzellen von 25 Plastiden auf 9—15, im Mittel 12, im Schwammgewebe von 55 Plastiden auf ungefähr 25 reduziert. Bei 2 weiteren Pflanzen lag der Durchmesser der sehr unregelmäßig geformten Plastiden zwischen 10 und 20 μ, ihre Zahl war in den Palisadenzellen auf 3—8, im Schwammparenchym auf 12—16 gesunken. Diese Beobachtungen machen es wahrscheinlich, daß das Wachstum der Plastiden durch die Mutation nicht wesentlich verändert wurde, daß aber vermutlich eine oder mehrere Plastidenteilungen ausgefallen waren. Weitere Beobachtungen über die Riesenplastiden veröffentlichte Bartels (1957).

Von besonderem Interesse war die Pflanze 1956. 214. 1. Während bei den meisten übrigen Pflanzen Plastidengröße und -zahl konstant bleiben, zeigten die Beobachtungen an dieser Pflanze in den verschiedenen Jahreszeiten sehr unregel-

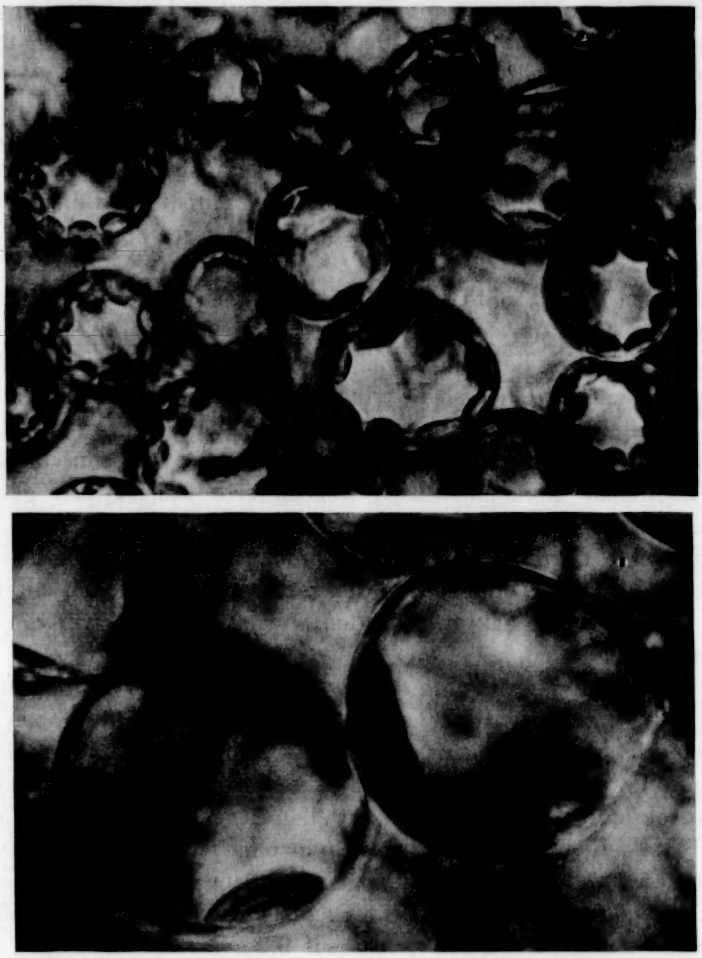


Abb. 1. Palisadenzellen mit Riesenplastiden. Oben eine 7zellige Gruppe homoplastidisch abgeänderter Zellen. Sie entstand in 3 Zellteilungsfolgen aus der ersten homoplastidisch abgeänderten Zelle. Die 7. Zelle, bei der die letzte Zellteilung ausgefallen ist, liegt völlig unscharf links oben in der Tiefe des Präparates (+). Die Zahl der Plastiden je Zelle ist ungefähr auf die Hälfte der normalen Zahl gesunken, der Plastidendurchmesser ungefähr verdoppelt. Unten: Palisadenzellen mit Plastiden, deren Größe noch mehr erhöht ist, deren Zahl auf ungefähr $^1/_4$ der normalen Zahl vermindert ist

mäßige Verhältnisse. Bei der ersten Untersuchung nach dem Auffinden im März wurden Riesenplastiden (Durchmesser um 20 μ, Anzahl je Zelle 3—8 im Palisaden-, 12—16 im Schwammgewebe, vgl. Abb. 2 unten) gefunden. Heteroplastidische Zellen fehlten mit Sicherheit. Eine Vererbung durch Plastidengene, die direkten Einfluß auf das Einzelplastid nehmen, kann also ausgeschlossen werden.

Bei der zweiten Untersuchung Anfang Juni enthielt die Mehrzahl der Zellen in den Ästen, die aus dem Sektor mit Riesenplastiden hervorgegangen waren, normale Plastiden. Zwischen diesen normalen Zellen waren ohne jede erkennbare Beziehung zum entwicklungsgeschichtlichen Aufbau der Blätter Zellen und Zellgruppen eingestreut, die neben normalen Plastiden oder allein schwach vergrößerte

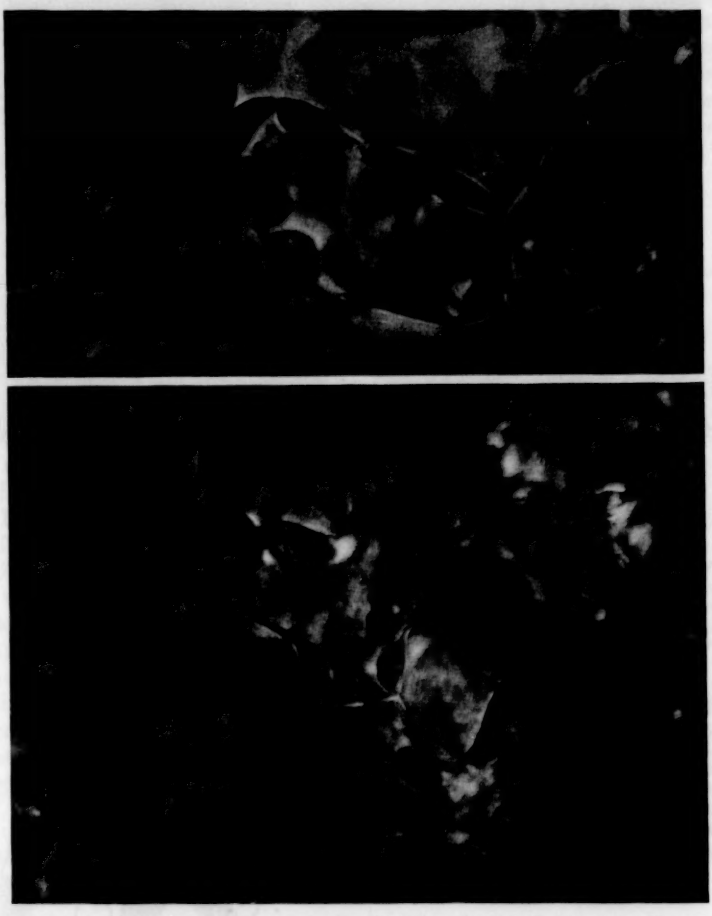


Abb. 2. Zellen mit Riesenplastiden aus dem Schwammparenchym. Links jeweils einige normale Zellen

Plastiden enthielten. Die Größenverhältnisse der Plastiden wechselten, und es wäre schwer gewesen, die Plastiden scharf geschiedenen Plastidenklassen zuzuordnen. Riesenplastiden, wie sie im März allein vorkamen, fehlten. In den nicht abgeänderten Ästen waren die Plastiden völlig einheitlich und normal. Diese unregelmäßigen Verhältnisse wurden den ganzen Sommer über beibehalten. Da die Begrenzung der Zellgruppen mit unregelmäßig vergrößerten Plastiden keine Beziehung zur Entwicklungsgeschichte der Pflanzen zeigte und in den heteroplastidischen Zellen keine gesetzmäßigen Mischungsverhältnisse festzustellen waren so ist es wahrscheinlich, daß die Größendifferenzen modifikativ bedingt waren.

Abb. 3. Triheteroplastomatische Zellen, ein Zeichen, daß in 1 Zelldeszendenz in relativ kurzem zeitlichen Abstand 2 Plastidenmutationen erfolgten. Oben Mikrophotographien in zwei optischen Ebenen, unten schematische Zeichnung nach dem lebenden Präparat und sechs weiteren Photographien. Die normalen Plastiden sind schwarz ausgezeichnet. In den Riesenplastiden sind einige der Grana eingezeichnet. Der dritte farblose, etwas verkleinerte und degenerierende Plastidentyp ist farblos gelassen

Es ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die heteroplastidischen Zellen homoplastomatisch sind. Im Januar des folgenden Jahres wurde an den in einem Kalthaus stehenden Überwinterungsrosetten an 1 Blatt ein kleiner Spitzensektor mit ungewöhnlich großen Plastiden gefunden. In den Palisadenzellen lagen teils 2—4 sehr große Plastiden oder nur ein einziger, becherförmig die Zelle auskleidender Riesenchloroplast. Zwischen diesen Zellen mit Einzelplastiden lagen einige sehr

kleine, völlig plastidenfreie Zellen. Offenbar war bei der Teilung der Zellen mit nur 1 Plastid die eine Tochterzelle ohne Plastid geblieben. Es war dies der einzige Fall, in dem eine völlige Plastidenelimination beobachtet werden konnte. Sehr merkwürdig war die Struktur der Einzelplastiden. Die Grana lagen vom Peristromium umgeben zu rundlichen Gruppen vereinigt, so daß das Plastid einem Gametangium mit beginnender Gametenbildung glich. Eine durchgehende schichtweise Lagerung der Grana fehlte. In einzelnen Zellen war das Einzelplastid in eine große Zahl kleiner, ungefähr gleich großer Teilstücke zerfallen. Leider blieb die Hoffnung, die Verhältnisse an Sektoren weiterer Blätter näher zu untersuchen und die Protokolle und Skizzen durch Photographien ergänzen zu können, unerfüllt. Die Beobachtungen lassen sich wohl am besten durch die Annahme deuten, daß im Gefolge einer Mutation die physiologischen Bedingungen in der Zelle so verändert wurden, daß es unter dem Einfluß der Umwelt, besonders der Temperatur, zu mehr oder minder starken Teilungshemmungen der Plastiden kam. Eine genauere Lokalisation der Mutation ist kaum möglich. Wesentlich erscheint, daß bei Teilungs-Hemmungen der Plastiden, die nicht alle Plastiden gleichzeitig beeinflussen, heteroplastidische Zellen entstehen können, die homoplasmatisch sein können (Pseudomischzellen). Bei der genetischen Deutung von Größenunterschieden der Plastiden ist daher besondere Vorsicht geboten. Zwei weitere Pflanzen, in denen nur einige wenige heteroplastidische Zellen mit Riesenplastiden beobachtet werden konnten, sind daher in Tabelle 6 (MICHAELIS 1958) in die Gruppe der fraglichen Fälle eingereiht worden.

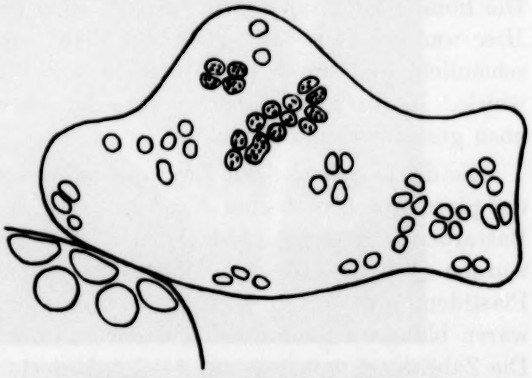


Abb. 4. Zeichnung einer homoplastidischen Palisadenzelle der *irregulare*-Pflanze 1955. 1001. 3 mit verkleinerten Plastiden. Links unten normale Plastiden. Nur in einzelnen Plastiden sind die Grana eingezeichnet. Zeichnung nach lebendem Präparat und beschädigter Photographie

5. An 3 Pflanzen wurden Zellen mit sehr *stark verkleinerten* Plastiden gefunden. Alle 3 Schecken traten in Verbindung mit plasmatisch vererbten Entwicklungsstörungen auf.

Bei einer *irregulare*-Pflanze wurden im Palisadenparenchym homoplastidische Zellen mit stark verkleinerten Plastiden gefunden. Die abnormen Palisadenzellen waren vergrößert und verzogen (Abb. 4). Es wird an anderer Stelle zu schildern sein, daß solche Zellformen entstehen, wenn zwischen sich normal teilenden Zellen isolierte Zellen und Zellgruppen eingelagert werden, bei denen eine Zellteilung ausfällt. In den abnormen Zellen kamen die verkleinerten Plastiden in Zahlen um 50 vor, also in Zahlen, die gegenüber den typischen Zahlen der Palisadenzellen ungefähr verdoppelt sind. Es kann vermutet werden, daß die Plastiden sich im normalen Rhythmus vermehrt haben, ihre Zahl aber durch Ausfall

einer Zellteilung verdoppelt wurde. Man kann also nicht annehmen, daß die geringe Plastidengröße durch einen Plastidenzerfall oder durch zusätzliche Teilung entstand. Es ist wahrscheinlicher, daß das Plastidenwachstum vermindert ist. Ihr Durchmesser ist auf $^1/_3$—$^1/_4$ des normalen Durchmessers reduziert, die Plastiden sind blaßgrün, ihr Umriß unregelmäßig. Die Grana der sehr empfindlichen Plastiden sind besonders gut sichtbar, ihre Zahl ist auf 3—8 verringert.

Der zweite Fall von Zwergplastiden wurde im Schwammparenchym einer *albomaculatum*-Pflanze mit ganz anderen Plastidentypen gefunden. Die homoplastidisch abgeänderten Zellen hatten eine normale Größe. Hier war die Zahl der Plastiden nicht erhöht. Es ist daher wahrscheinlich, daß durch die Mutation das Plastidenwachstum reduziert wurde. Im übrigen entsprach das Aussehen der Zwergplastiden dem oben geschilderten Beispiel.

Die dritte Schecke mit Zwergplastiden war spontan in einer Pflanze des plasmonisch gestörten *Ep.-hirsutum*-Essen × *parviflorum*-Tübingen-Bastardes aufgetreten (Abb. 5). In der Entmischungszone der Schecke wurden zahlreiche typische Mischzellen gefunden, so daß hier eine echte Plastidenmutation angenommen werden kann. Die mutierten Plastiden waren blaßgrün bis farblos und hatten eine sehr unregelmäßige Form. Die Zahl der Grana war auf 4—7 reduziert. Die Plastidenzahl je Zelle war normal.

6. *Albomaculata* mit *blaßgrünen*, sonst aber *nur wenig veränderten* Plastiden. Bei 14 Pflanzen mit relativ auffallender, gelb- bis blaßgrüner, im Alter fast weißlicher Scheckung waren die Plastidenunterschiede verhältnismäßig gering. In der Flächenansicht waren die abgeänderten Plastiden nur wenig kleiner als die normalen, aber etwas heller grün gefärbt. Im optischen Querschnitt waren die Unterschiede etwas deutlicher, die abgeänderten Plastiden waren dünner. Im alternden Blatt können die abgeänderten Plastiden stärker ausbleichen und kurz vor dem Vergilben des Blattes völlig degenerieren. Sie gleichen dann den in den nächsten Gruppen beschriebenen Plastiden. Bei schwächeren Vergrößerungen erscheinen die Plastiden körnig, da die Grana etwas besser sichtbar sind. In einzelnen Fällen dürfte die Zahl der Grana um ein Geringes vermindert gewesen sein.

Heteroplastidische Zellen ließen sich bei 7 Pflanzen eindeutig feststellen (Abb. 6 unten). Diese *albomaculata* lassen sich also einer echten Plastidenvererbung zuordnen. Bei 3 Pflanzen ließen sich heteroplastidische Zellen wegen der zu geringen Unterschiede zwischen normalen und abgeänderten Plastiden nicht mit Sicherheit erkennen. Bei den restlichen 4 Pflanzen fehlten heteroplastidische Zellen mit großer Wahrscheinlichkeit.

Abb. 5. *Albomaculatum*-Schecke des *Epilobium-hirsutum* × *parviflorum*-Bastardes. Auf den melierten und verbeulten Blättern der plasmagestörten Pflanze ist das Scheckungsmuster undeutlich. Unten mehrere heteroplastomatische Palisadenzellen. Neben normalen, gleichmäßig grün gefärbten Plastiden liegen kleine, unregelmäßig konturierte und aufgehellte Zwergplastiden

Unabhängig von diesen Verhältnissen war die Plastidenzahl je Zelle. Bei der Mehrzahl der Schecken war die Plastidenzahl in den Zellen normal. Bei 2 Pflanzen war in den homoplastidisch abgeänderten Zellen

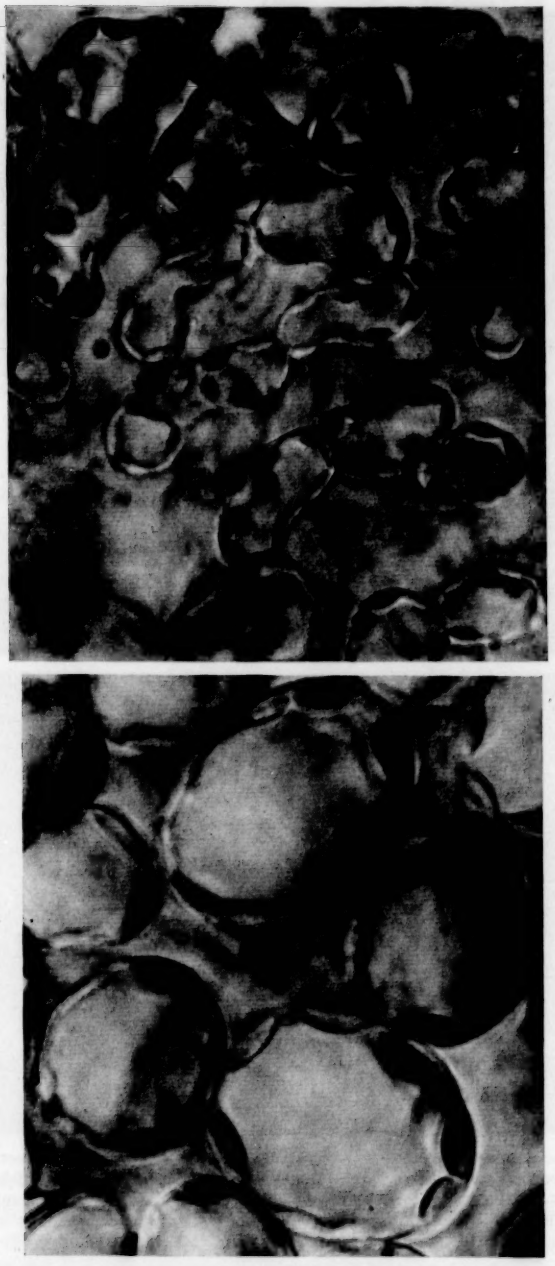


Abb. 6. Oben: Grenze zwischen einer homoplastidisch normalen und homoplastidisch abgeänderten Zelldeszendenz im Schwammparenchym. Im abgeänderten Gewebe (unten) sind die Plastiden etwas kleiner, flacher und heller grün. Ihre Zahl je Zelle ist vermindert. Unten: Heteroplastomatische Palisadenzellen. Die normalen Plastiden sind fast halbkugelig und dunkelgrün, die mutierten flach und hellgrün. In der photographischen Aufnahme sind wegen der verschiedenen Lage der optischen Schnitte die Unterschiede weniger deutlich als im lebenden Präparat

die Plastidenzahl ungefähr auf die Hälfte herabgesetzt. Die Palisadenzellen enthielten um 12 Plastiden je Zelle, im Schwammparenchym wurden Werte um 25 festgestellt. Eine Verringerung der Zellzahl ließ sich nicht sicher nachweisen, so daß ein Ausfall einer Plastidenteilung wahrscheinlich ist.

Besonders interessant verhielt sich Pflanze 1956. 315. 62. An Hand der Plastidenzahlen je Zelle ließen sich zwei Fleckentypen unterscheiden, die sich auf zwei sich teilweise überschneidende Sektoren verteilten. Die abgeänderten Plastiden beider Sektoren waren einander sehr ähnlich und nicht sicher zu unterscheiden. In dem einen Sektor war in den homoplastidisch abgeänderten Zellen die Plastidenzahl je Zelle normal. In diesem Sektor war die Scheckung viel feiner und kleinfleckiger und zeigte dadurch einen stärkeren Durchmischungsgrad an. Die Fleckung des Sektors blieb auch länger erhalten. In dem zweiten Sektor war in den homoplastidisch abgeänderten Zellen die Plastidenzahl ungefähr auf die Hälfte reduziert (Abb. 7). In diesem Sektor der Pflanzen war die Entmischung viel weiter fortgeschritten, er enthielt in überwiegendem Maße große, rein weiße Areale (Abb. 8). Es ist theoretisch zu erwarten, daß mit einer Verminderung der Plastidenzahl je Zelle die Plastidenentmischung beschleunigt wird und früher homoplastidische Zellen auftreten als bei größeren Plastidenzahlen. Je früher aber homoplastidische Zellen auftreten, desto größer werden die rein weißen Areale, die daraus entstehen. Heteroplastidische Zellen ließen sich auf alle Fälle in dem feingescheckten Sektor feststellen. In dem grob gefleckten Sektor war die Entmischung schon zu weit fortgeschritten, als daß Mischzellen hätten mit Sicherheit erwartet werden können. Die Beobachtungen würden sich am besten durch die Annahme erklären lassen, daß in kurzem Abstand in derselben Zelldeszendenz zwei Mutationen entstanden, die beide die Plastiden in ähnlicher Weise veränderten. Die eine der beiden Mutationen betraf sicherlich Erbträger, die in den Plastiden lokalisiert sind, bei der zweiten Mutation bleibt das offen. Diese zweite Mutation dürfte zu einem Ausfall einer Plastidenteilung geführt haben und zu geringeren Plastidenzahlen je Zelle, wobei im einzelnen der Mechanismus der Plastidenverminderung unbekannt bleibt. Leider waren — wie vielfach bei den Plastidenschecken — ausführlichere Untersuchungen nicht möglich, da der grob gefleckte Sektor bald nach seiner Auffindung eliminiert wurde.

7. *Albomaculata* mit *gelbgrünen, verkleinerten* Plastiden. Bei 19 Pflanzen mit goldgrünen bis bleichen Sektoren waren die Plastiden deutlich verkleinert. In den jüngeren Blättern war der Plastidenbau anscheinend weitgehend normal, die verkleinerten gelbgrünen Plastiden hatten eine mehr kugelförmige Gestalt (Abb. 9 oben). Mit dem Ausbleichen der Plastiden werden die Grana deutlicher, sie sind dann größer als normal, ihre Zahl war zum Teil erheblich verringert (Abb. 9 unten). Im Alter und bei unvorsichtiger Präparation verquellen und degenerieren die Plastiden.

In der Mehrzahl der Fälle wurden zahlreiche heteroplastomatische Zellen gefunden (Abb. 10). Nur bei 2 Pflanzen, die im Zusammenhang mit der Plasmonabänderung *irregulare* entstanden waren, fehlten Mischzellen. Bei 1 Pflanze war die Feststellung von Mischzellen unsicher.

Bei den meisten hierher gehörenden Schecken war die Plastidenzahl je Zelle normal. In 2 Fällen wurden in den homoplastidisch abgeänderten

Palisadenzellen Werte um 12, im Schwammparenchym Werte von 9—30 Plastiden je Zelle gezählt.

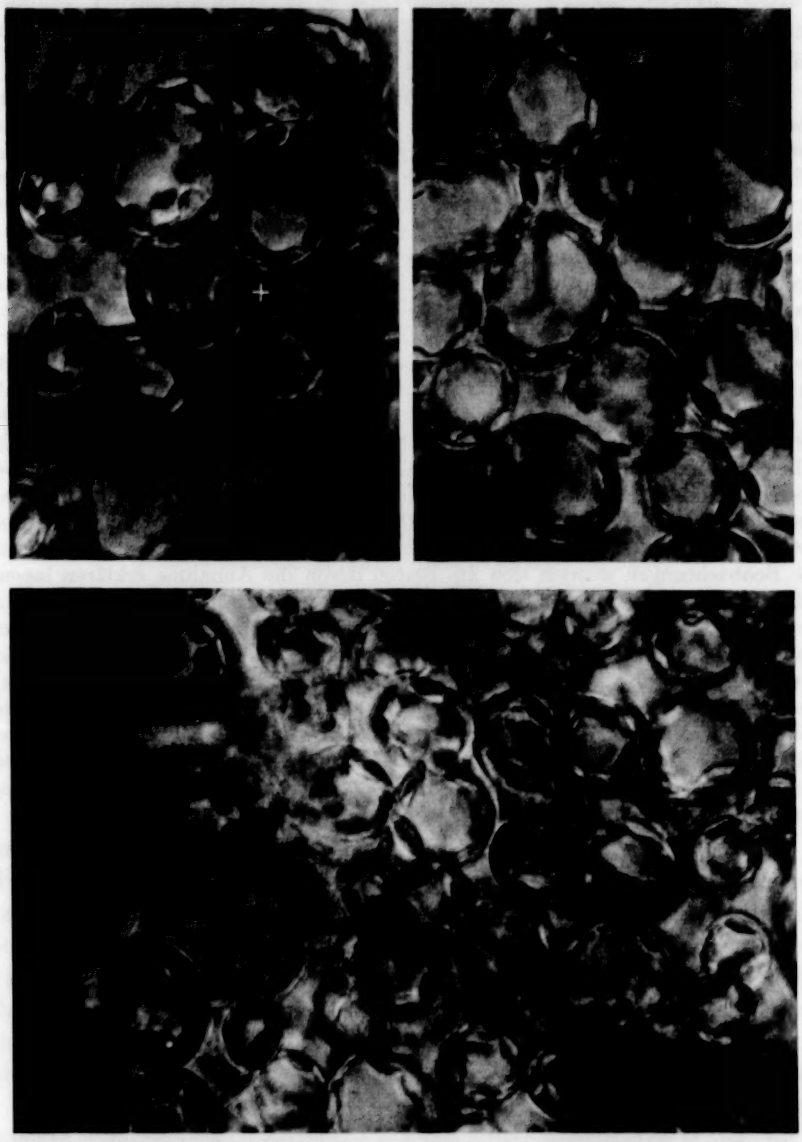


Abb. 7. Palisadenzellen der Pflanze 1956. 315. 62. Unten: Grenze zwischen normalem und „weißem" Gewebe mit wenigen Plastiden. Oben, rechts: Abgeändertes Gewebe mit der normalen Plastidenzahl. Oben, links: Heteroplastidische Zellen

8. *Albomaculata* mit *schaumig degenerierenden* und *verquellenden* Plastiden. Bei 29 Schecken mit elfenbeinweißen Flecken war die

Plastidendegeneration noch stärker als in den vorhergehenden Gruppen. In jüngeren Blättern glichen die Plastiden denen der Gruppe (7). Sie

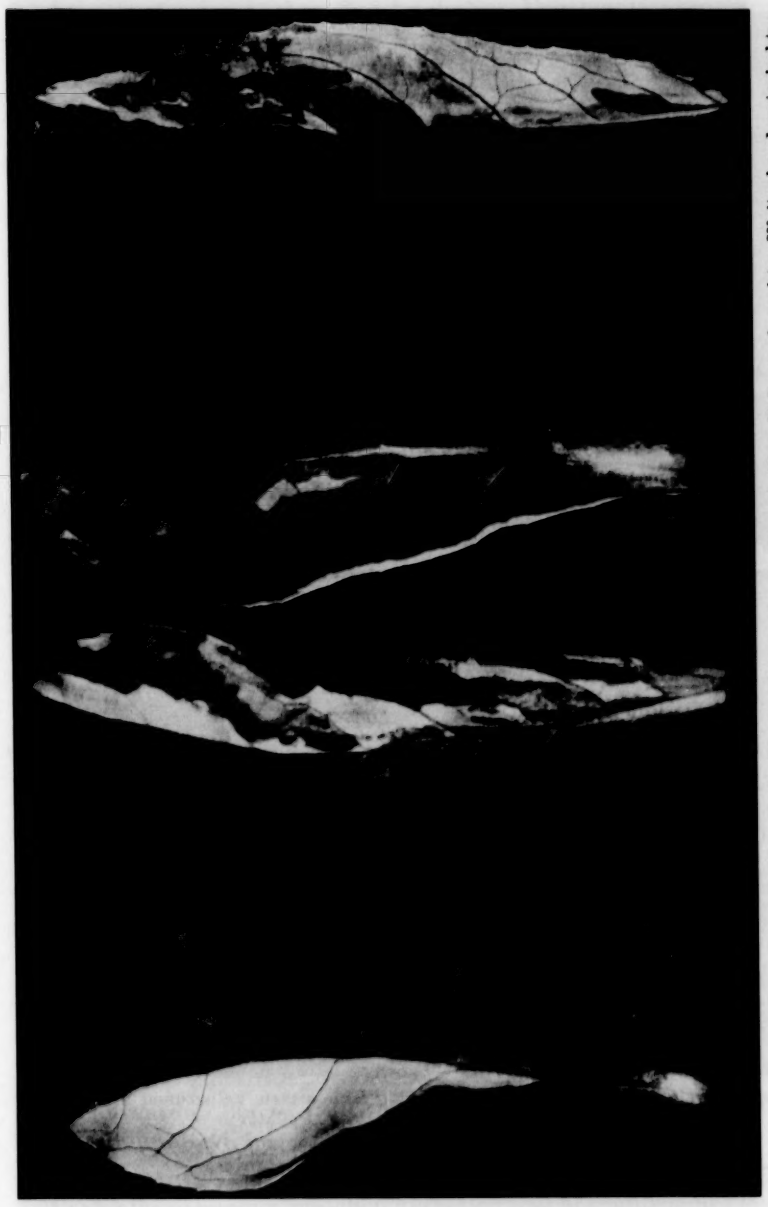


Abb. 8. Vier Blätter der Pflanze 1956. 315. 62 aus den beiden Sektoren. Von links nach rechts: Weitgehend entmischtes Blatt aus dem grobfleckigen Sektor mit wenig Plastiden im „weißen" Gewebe. Daneben Blatt aus dem feinscheckigen Sektor, in dem alle „weißen" Zellen viele Plastiden enthielten. Rechts zwei Blätter aus den sich überlagernden Teilen der Sektoren. In dem Blatt ganz rechts enthielt der große weiße Fleck rechts unten wenige Plastiden, die kleinen weißen Spitzer der Blattspitze viele Plastiden und Mischzellen. Im Blatt links daneben gehört das „weiße" linke Blattöhrchen dem plastidenarmen Sektor an. Die übrigen „weißen" Areale haben normale Plastidenzahlen

sind meistens deutlich kleiner und haben gelegentlich nur den halben Durchmesser (Abb. 11a links). Mit der Vergrößerung der Blätter erfolgt

eine Auflockerung der Plastidenstruktur in Verbindung mit einer Desorientierung der Grana. In solchen Stadien findet man eine deutlich

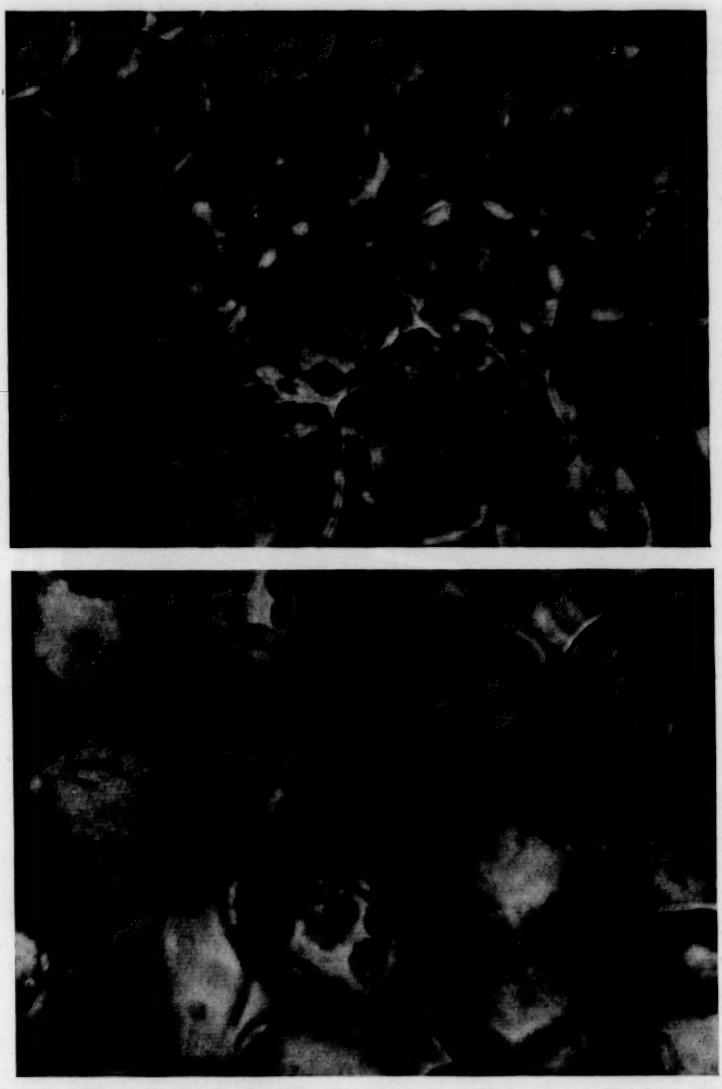


Abb. 9. Homoplastidisch abgeändertes Gewebe mit verkleinerten, gelbgrünen Plastiden, oben aus jüngerem, unten aus älterem Blatt

verringerte Zahl leuchtend grüner Grana in einem farblos erscheinenden, mehr oder minder verquollenen Stroma liegen (Abb. 11a rechts). Schließlich zerfallen die Grana nach Verlust der grünen Farbe, und es bleiben in der hyalinen Stromablase nurmehr einige, oft einseitig

verlagerte Körnchen liegen (Abb. 11 b). Gelegentlich können die degenerierenden Plastidenblasen zusammenfließen. Im alternden Blatt sind die abgeänderten Plastiden völlig zerfallen. In anderen Beispielen, die aber nicht scharf vom soeben beschriebenen Degenerationsvorgang abzutrennen sind, erfolgt eine schaumig-vakuolige Degeneration der Plastiden (Abb. 11 c). Auch in diesen Fällen kommt es schließlich zu einer Verquellung der Plastiden.

Dieser Degenerationsablauf kann im Hochsommer in bestimmten Blatteilen in auffallender Weise abgewandelt werden. Die Vakuolisierung tritt schon im normal-grünen Plastiden ein, wobei ein oder einige wenige Tröpfchen entstehen, die das homogen grün erscheinende Stroma kappenförmig zur Seite drängen. Eine weitere Verquellung der so abgeänderten Plastiden unterbleibt. Da häufig nur ein Teil der Plastiden einer Zelle in dieser Weise vakuolisiert und der Rest der Plastiden völlig verquillt, so enthalten die Zellen nebeneinander farblos zerfallende und goldgrüne, vakuolisierende Plastiden (Abb. 12). Solche heteroplastidisch gewordenen Zellen können leicht heteroplastomatische Mischzellen vortäuschen (MICHAELIS 1957 a), sie sind aber von echten Mischzellen durch ihre Lage in der Nähe der Nerven, die keine Beziehung zur Lage der Zelldeszendenzlinien zeigt, und durch ihre ungeordneten Mischungsverhältnisse zu unterscheiden. Sie treten an der Nachkommenschaft erst wieder im Sommer auf und fehlen vorher. Auf solche Pseudomischzellen wird an anderer Stelle näher einzugehen sein.

Die Plastidendegeneration beginnt in relativ frühen Stadien der Blattentwicklung und kann die Plastiden- und Zellteilungsvorgänge beeinflussen. Bei einigen Schecken wurden in den Palisadenzellen statt Plastidenzahlen um 25 Werte um 10—14 festgestellt, im Schwammparenchym statt Werten um 50 Plastidenzahlen um 25 je Zelle. An einigen Blättern, in denen homoplastidisch grüne Palisadenzellen über einem homoplastidisch farblosen Blattgewebe lagen, besaß das Palisadengewebe nur 1 statt 2 Zellschichten.

Bei 17 von 29 Schecken wurden zahlreiche heteroplastomatische Mischzellen beobachtet (Abb. 11), die hier wegen der großen Unterschiede zwischen normalen und abgeänderten Plastiden besonders auffallend und eindrucksvoll sind. Bei 2 Pflanzen war die Feststellung von Mischzellen unsicher, da die Scheckung zu früh eliminiert wurde und die wenigen Blätter, die zur Untersuchung zur Verfügung standen, schon völlig entmischt waren. Bei 10 Pflanzen fehlten Mischzellen auch an Stellen, an denen sie unbedingt zu erwarten gewesen wären.

Gelegentlich kommen bei dem hier beschriebenen Degenerationstyp Wechselbeziehungen zwischen normalen und abgeänderten Plastiden vor. Bei 3 Schecken fehlten Mischzellen, die neben degenerierenden Plastiden nur 1—4 normale Plastiden enthalten. Es degenerierten die normalen

Abb. 10a

Abb. 10a u. b. Heteroplastidische Zellen. a [links] Überblick über eine Entmischungszone im Palisadenparenchym. [Rechts] heteroplastidische Palisadenzellen neben einer Orientierungsskizze, die an Hand des lebenden Präparates und weiterer Photographien in anderen optischen Ebenen hergestellt wurde

Abb. 10 b. Verschiedene heteroplastidische Palisadenzellen, zu unterst heteroplastidische Schwammparenchymzellen

a

b

Abb. 11 a—c. Heteroplastidische Palisadenzellen. a Links: Zellen eines jüngeren Blattes vor dem Beginn der Plastidenverquellung. In der unteren Zelle liegen rechts oben 2 normale, darunter 3 abgeänderte, wesentlich kleinere Plastiden. Rechts: Degeneration im ausgewachsenen Blatt. Ein Teil der Plastiden ist zu kugeligen, durchsichtigen Blasen verquollen, in denen desorientiert noch leuchtend grüne Grana liegen. b Heteroplastomatische Zellen mit normalen und verquollenen, farblosen Plastiden

Plastiden der Zelle unter dem Einfluß von zahlreichen degenerierenden Plastiden ebenfalls. Über einen dieser Fälle wurde schon kurz berichtet (MICHAELIS 1957 b). Bei 3 anderen Pflanzen reichten solche Wechsel-

wirkungen über die Zellgrenzen hinaus. Die abgeänderten Plastiden von Zellen, die unmittelbar an homoplastidisch normales Gewebe angrenzen, waren offenbar später und weniger stark geschädigt worden. Sie waren zwar ebenfalls farblos geworden, enthielten aber noch einzelne relativ große Stärkekörnchen. Umgekehrt waren grüne Plastiden, die unmittelbar an farbloses Gewebe grenzen, etwas kleiner und heller grün.

9. *Albomaculata*, deren Plastiden bis zu *völligem Schwund* degenerieren. Bei 12 rein weiß gescheckten Pflanzen verlief die Degeneration der Plastiden in ähnlichen Bahnen wie in der vorhergehenden Gruppe, doch beginnt die Degeneration schon in jüngeren Blättern. Die noch grünen Plastiden bleichen aus, verquellen zu zusammenfließenden Blasen und zerfallen im ausgewachsenen Blatt völlig (Abb. 13). Zum mindesten lassen sich die Plastidenreste nicht mehr vom Cytoplasma abgrenzen. Der Zellkern und die durch eine besonders lebhafte Plasmaströmung mitgerissenen Sphärosomen bleiben intakt. Die farblosen Zellen sind in ausgewachsenen Blättern noch gut plasmolysierbar. Im alternden Blatt allerdings kommt es in den farblosen Geweben leichter und früher zu subletalen Schädigungen des Zellkernes und Zellplasmas als in den Blättern der anderen albomaculaten Pflanzen.

Abb. 11 c. Heteroplastomatische Zellen, in denen die abgeänderten Plastiden schaumig degenerieren

Bei 6 Pflanzen kamen in größerer Zahl heteroplastomatische Zellen vor. Diese Mischzellen sind aber nur in jüngeren Blättern als heteroplastidische Zellen zu erkennnen. Da in älteren Blättern die abgeänderten Plastiden verschwunden sind, fallen hier die heteroplastidischen Zellen nur durch die verringerten Plastidenzahlen auf (Abb. 14). Die Zahl der Plastiden schwankt in den Entmischungszonen zwischen 0 und 12 und geht mit steigendem Anteil normaler Plastiden in die für die Palisadenzellen typischen Plastidenzahlen um 25 je Zelle über. Diese niedrigen Zahlen von 1 bis 5 normal großer Plastiden sind sonst nicht beobachtet worden. Die Untersuchung junger Blätter läßt aber sofort erkennen, daß diese Zahlen durch nachträgliche Degeneration und nicht durch unregelmäßige Plastiden- und Zellteilungen entstehen. Nach den

Abb. 12. Zellen aus homoplastomatisch „weißen" Arealen. Ein Teil der Plastiden ist völlig farblos und verquollen. Einzelne Plastiden der „Pseudomischzellen" sind noch goldgrün gefärbt, doch wird das gefärbte Stroma durch einen zentralen Tropfen kappenförmig zur Seite gedrängt

Abb. 13. Grenze zwischen farblosem und grünem Palisadengewebe bei einer Schecke, der Mischzellen prinzipiell fehlen. In den farblosen Zellen sind die Plastiden fast bis zum völligen Schwund degeneriert

Erfahrungen an *Epilobium* scheinen Zellen, bei denen die Plastidenzahl unter 5 sinkt, ihre Teilungsfähigkeit einzubüßen, es sei denn, daß die

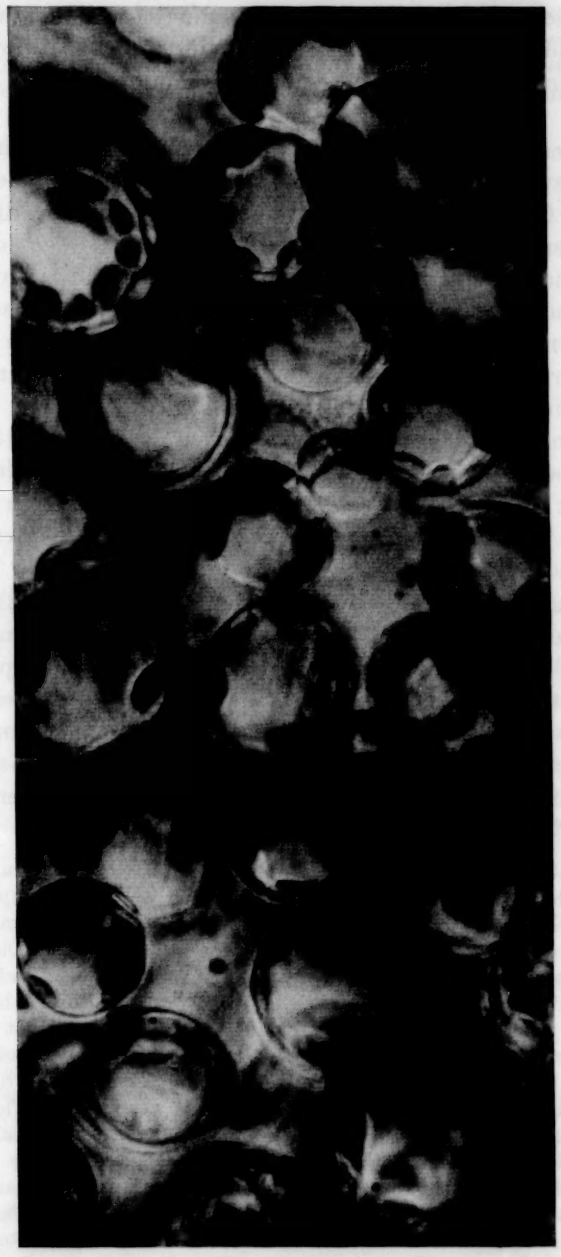


Abb. 14. Mischzellen einer Schecke, in der die abgeänderten Plastiden sehr früh degenerieren und schließlich völlig fehlen. In den Zellen am unteren Bildrande noch Degenerationsstadien. In den sehr verschieden großen Palisadenzellen liegen 0 bis 20 normale Plastiden

Plastidenmasse entsprechend vermehrt wird (vgl. Gruppe der Riesenplastiden). Es ist interessant, daß dieser Einfluß der Jungplastiden auf

die Teilungsfähigkeit der Zellen durch die Plastidenmutation primär nicht verändert wurde und erst verhältnismäßig spät im Laufe der Degeneration verlorengeht. Erst dann kommt es zu Zellteilungsstörungen.

Bei 2 der 6 Pflanzen mit Mischzellen ließen sich keine Wechselwirkungen zwischen den degenerierenden und den normalen Plastiden einer Zelle feststellen. Bei anderen Pflanzen wurden die normalen Plastiden der Mischzellen in demselben Maße kleiner, als die Zahl der degenerierenden Plastiden je Zelle zunahm. Dabei spielt nicht nur das Verhältnis normaler:abgeänderten Plastiden in der Zelle, sondern auch die Plastiden-Zusammensetzung der benachbarten Zellen eine Rolle. Einzelne normale Plastiden inmitten einer Zelle mit abgeänderten Plastiden degenerieren langsamer, wenn in der Umgebung der heteroplastidischen Zelle überwiegend grüne Zellen liegen (Abb. 15), als wenn sie in einer farblosen Umgebung vorkommen. Bei diesen Pflanzen treten auch an der Grenze zwischen homoplasmonisch normalen und homoplasmonisch abgeänderten Zelldeszendenzen einige Zellreihen mit Übergangsplastiden auf.

Bei 5 Pflanzen fehlten heteroplastidische Mischzellen völlig (Abb. 13). Auch hier kommen Wechselbeziehungen zwischen normalen und abgeänderten Zellen vor, die die Aufklärung der Plasma-, resp. Plastiden-Umkombination sehr erschweren können. An einigen Pflanzen kamen an der Grenze zwischen grünem und weißem Gewebe Zonen von 1—3 Zellreihen vor, in denen auf der Seite der grünen Zellen die Plastiden etwas verkleinert sind und in denen auf der weißen Seite die Degeneration der mutierten Plastiden etwas verzögert wird.

Sehr auffallend verhielten sich 2 Pflanzen ohne Mischzellen. In den Arealen mit feiner Scheckung kamen neben plastidenfreien Zellen Zellgruppen vor, die homoplastidisch grün waren und auch in jungen Blättern nur normale Plastiden enthielten, in denen aber die Zahl der Plastiden reduziert war. Die Zahlen der Plastiden je Palisadenzelle schwankte in diesen Zellen zwischen 7 und 18, während in normalen Palisadenzellen die Werte um 25 lagen. Plastidenzahlen zwischen 1—6 je Zelle fehlten eindeutig. Die Zellen und Zellgruppen mit verringerten Plastidenzahlen folgten nicht in Zonen den Grenzen zwischen weißem und grünem Gewebe, wie das bei einer wechselseitigen Beeinflussung durch diffundierende Stoffe hätte der Fall sein können. Die Zellen mit verringerten Plastidenzahlen waren in das übrige Gewebe eingesprengt (Abb. 16), wie sonst weiße Zellinseln in grünem Gewebe lagen oder wie bei Pflanzen mit Mischzellen die heteroplastidischen Zellen im homoplastidischen Gewebe angeordnet waren. So taucht der Verdacht auf, daß diese Zellen ebenfalls heteroplasmonisch waren. Die Beobachtungen würden sich am besten durch folgende Annahmen deuten lassen. Das Fehlen von Mischzellen zeigt, daß das Verhalten aller Plastiden einer Zelle von außen her durch plasmatische Erbfaktoren unbekannter Lokalisation bestimmt wird. In Zellen mit einer überwiegenden Zahl normaler Erbfaktoren müßte ein normaler Plastidenbestand gewährleistet werden. Sinkt die Zahl der normalen Erbträger unter eine gewisse Reaktionsschwelle, so vermögen die Plastiden zwar noch zu ergrünen. Es fällt

aber eine der letzten Plastidenteilungen aus, und die Zahl der Plastiden je Zelle wird reduziert. Mit einer weiteren Abnahme der normalen Erbträger und entsprechenden Zunahme der mutierten Erbträger dürfte das Plastidom der Zellen weiter geschädigt werden. In Zellen mit sehr vielen mutierten Erbträgern, resp. in homoplasmonisch

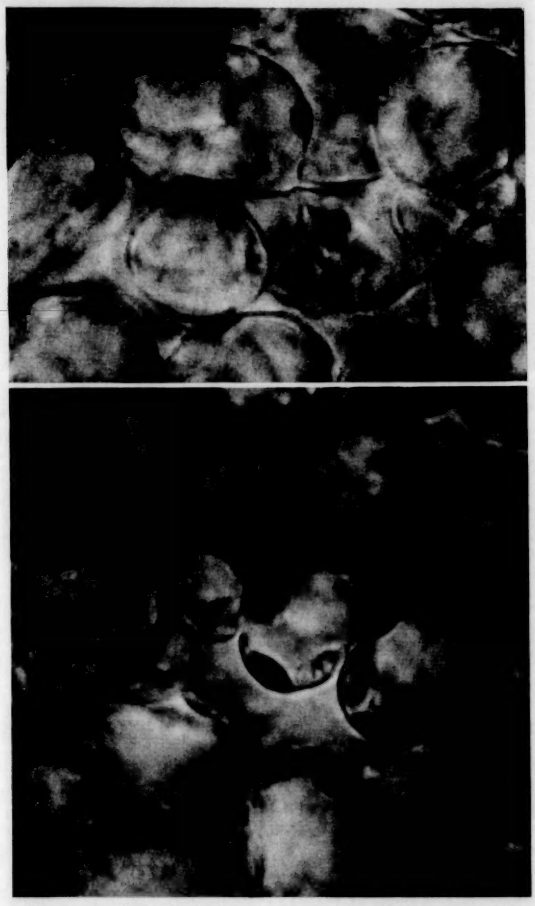


Abb. 15. Mischzellen aus den Palisaden der Schecke 1955. 4411. 27. Im unteren Bild überwiegen in den Zellen die normalen Plastiden. In der Mitte eine Zelle, die nur 1 normales Plastid inmitten degenerierender Plastiden enthält. Das grüne Einzelplastid hat seiner Umgebung entsprechend eine normale Größe. Oben überwiegend farblose Zellen. In der Mitte eine Zelle, die ebenfalls nur 1 grünes Plastid enthält, das aber unter dem Einfluß seiner degenerierenden Umgebung stark verkleinert ist

mutierten Zellen dürfte das Plastidom völlig degenerieren. Durch eine solche Hypothese ließen sich die mikroskopischen Befunde zwanglos erklären. Ein Beweis ist derzeit nicht möglich.

Unter den Schecken mit frühzeitig degenerierenden Plastiden treten verhältnismäßig häufig (7 Pflanzen) Zellteilungsstörungen auf. In den homoplasmonisch weißen Zelldeszendenzen fallen die letzten

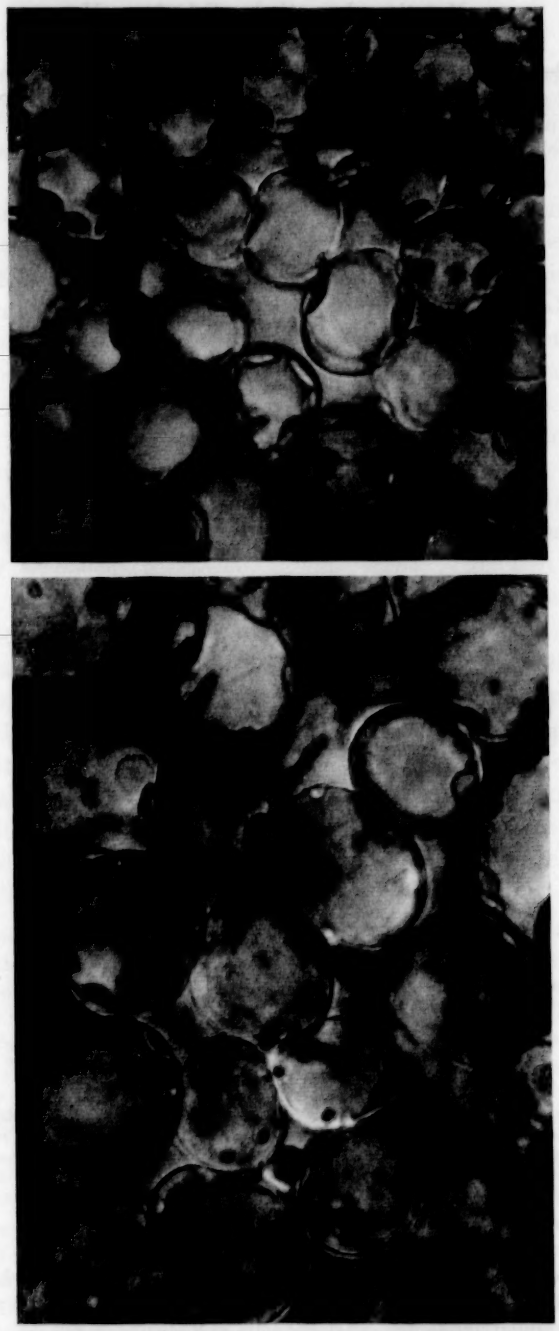


Abb. 16. Palisadenzellen aus der Entmischungszone von Schecken, der heteroplastidische Zellen fehlen. Unten eine 7zellige Gruppe homoplastidisch farbloser Zellen, in denen nurmehr die letzten Reste der degenerierten Plastiden zu finden sind. Die übrigen Zellen enthalten keine degenerierenden Plastiden. Die Plastiden sind aber alle etwas verkleinert und liegen in verringerter Zahl in den Zellen. Oben eine Zellgruppe mit verringerter Plastidenzahl inmitten normaler Palisadenzellen

1—4 Zellteilungsfolgen aus. In den weißen Arealen entstehen weniger Zellen. Die Zellen liegen lockerer, und es kann je nach Anordnung von grünen und weißen Zellen zu Faltungen oder zu erheblichen Gewebespannungen kommen. Vielfach sind die Blätter schon in makroskopisch sichtbarer Weise verbogen und die weißen Blatteile straff gespannt. Liegen farblose Zellen isoliert in grünem Gewebe, so werden die farblosen Zellen je nach der Wachstumsrichtung der anliegenden, grünen Zellen gedehnt und verzogen. Einzelzellen können zu langen Schläuchen werden, die gelegentlich zehnmal so lang wie breit werden und Sekretzellen oder Idioblasten gleichen. Wird eine farblose Zellschicht, zum Beispiel eine einzelne farblose Palisadenschicht, von grünem Gewebe unterlagert, so werden die farblosen Zellen sternförmig ausgezogen. Palisadenzellen können eine Gestalt annehmen, die der der normalen Schwammparenchymzellen außerordentlich ähnlich ist. Umgekehrt können grüne Schwammparenchymzellen, die inmitten farblosen Gewebes liegen, die Form von Palisadenzellen annehmen (Abb. 7 bei MICHAELIS 1957b). Über diese für das Verständnis der Wachstums- und Differenzierungsvorgänge im Blatt wichtigen Beobachtungen sei an anderer Stelle berichtet. Hier soll vor allem darauf hingewiesen werden, daß die durch die Mutationen abgeänderten Reaktionsnormen der Plastiden nicht nur auf die Teilungsrate der Plastiden selbst, sondern auch auf die Teilungsvorgänge der Zellen Einfluß nehmen können.

10. *Albomaculatum*-Pflanze, bei der die *Entwicklung* im Stadium der *Jungplastiden unterbrochen* wird. Schließlich ist die rein weiße Schecke 1955. 4466. 102 zu erwähnen. Es ist dies die einzige Schecke, bei der nicht die fast fertig ausgebildeten, schon grün gefärbten Plastiden nachträglich ausbleichen und degenerieren, sondern bei der die Entwicklung von den weniggranulären, noch fast ungefärbten Jungplastiden zu den multigranulären Chloroplasten von Anfang an unterblieb. In den ausgewachsenen Blättern fehlten in den Zellen farbloser Gewebe die Plastiden völlig. Die Pflanze besaß die schon im vorigen Abschnitt erwähnten anatomischen Störungen infolge Ausfalls von Zellteilungen. Leider entstanden an der Pflanze nur einige wenige gescheckte Blätter, so daß weitere Untersuchungen unterbleiben mußten.

B. Über die Vererbung der Plasmon-Mutationen

Bei den ausgelesenen *albomaculatum*-Schecken waren auf Grund der vielfach verschachtelten Musterung der Blätter und auf Grund des Entmischungsverlaufs Mutationen plasmatischer Erbträger angenommen worden. Bei den Abänderungen des *irregulare*-Komplexes war ein ähnlicher Schluß gezogen worden, da die neu aufgefundenen Mutanten mit den spontan am *Ep.-hirsutum* × *parviflorum*-Bastard aufgetretenen und dort ausführlich untersuchten Abänderungen (MICHAELIS 1949) morpho-

logisch identisch waren und sich bei vegetativer Vermehrung analog verhielten. Diese Schlüsse waren durch Kreuzungsversuche zu erhärten.

Die genetische Untersuchung der in den Mutationsversuchen aufgetretenen Einzelabweicher und der Pflanzen mit einfachen Sektoren (vgl. Gruppe II 1, S. 627, MICHAELIS 1958) mußte vorerst zurückgestellt werden, da die übrigen Untersuchungen alle verfügbare Zeit in Anspruch nahmen.

Leider ging bei sehr vielen Pflanzen mit kompliziert verschachtelter Musterung die Mutante trotz vieler Regenerationsversuche vor der Blütenbildung verloren. Nur bei einem Bruchteil der aufgefundenen *albomaculatum*-Pflanzen reichte die Scheckung bis in die Blütenregion. Die Hoffnung, daß aus den Überwinterungsrosetten erneut gescheckte Triebe entstehen würden, trügte ebenfalls. Die Entmischung war meistens so schnell fortgeschritten, daß nur rein weiße Rosetten entstanden, die den Winter nicht überlebten. Nur 2 Schecken standen noch ein zweites Jahr für Untersuchungen zur Verfügung, und in ein drittes Versuchsjahr gelangte keine einzige Schecke. Im Gegensatz zu manchen anderen Versuchsobjekten entstanden an den *albomaculatum*-Pflanzen mit zufallsgemäßer Plasma-Umkombination nur sehr selten Periklinal-Chimären, so daß es auch nicht möglich war, das homoplasmonisch abgeänderte Gewebe in dieser Anordnung am Leben zu erhalten. Nur an 2 Pflanzen mit einseitiger Wanderung der mutierten Plastiden entstanden Periklinalchimären, über die an anderer Stelle zu berichten ist.

Bei den im Mutationsversuch aufgetretenen *rhytidiophyllum*-Pflanzen, die den spontan aus dem *irregulare*-Komplex des *Ep.-hirsutum* × *parviflorum*-Bastard abspaltenden *rhytidiophyllum*-Plasmonabänderungen entsprachen, waren die Schwierigkeiten noch größer. Die *rhytidiophyllum*-Zellen haben eine so schwache Vermehrungsrate, daß die *rhytidiophyllum*-Sektoren durch die Konkurrenz der normalen Zellen in der Regel sehr schnell aus den Vegetationspunkten verdrängt werden.

Eine weitere Schwierigkeit beruht auf den Fertilitätsverhältnissen einiger Mutanten. Viele der in Gruppe (2) eingereihten Schecken mit geringen Plastidenunterschieden waren sowohl pollen- wie eizellensteril. Dasselbe gilt für die sehr ähnliche Abänderung *diversivirescens* des *irregulare*-Komplexes. Bei diesen Pflanzen blieben alle der sehr zahlreich durchgeführten Kreuzungen der verschiedensten Art ohne jeden Ansatz.

Günstiger liegen die Verhältnisse bei den *irregulare*-Mutanten, die nur pollensteril waren. Aus den Versuchen mit den *irregulare*-Pflanzen des *Ep.-hirsutum* × *parviflorum*-Bastardes war bekannt, daß nach Kreuzung mit Pollen bestimmter *Ep.-hirsutum*-Sippen die *irregulare*-Merkmale durch mütterliche, nicht mendelnde Vererbung weitergegeben werden, daß aber nach mehrfachen Rückkreuzungen infolge Aufspaltung „plasmaempfindlicher" Kerngene auch pollenfertile *irregulare*-Pflanzen entstehen. Mit ihnen lassen sich dann die entscheidenden blütenreziproken Kreuzungen durchführen. Da diese mehrfache Rückkreuzung mehrere Jahre in Anspruch nimmt, können vorerst nur die Kreuzungen einer 1953 aufgetretenen Mutante vorgelegt werden (Tabelle 1).

Die Eizellen übertragen die *irregulare*-Eigenschaft mindestens bis in die dritte Generation in einer Häufigkeit von hier 95,23%, während nach Kreuzungen mit *irregulare*-Pollen unter 672 Pflanzen nur 2 *irregulare*- und 1 *rhytidiophyllum*-Pflanze entstanden. Die Häufigkeit von 0,45% liegt

in der Nähe der spontanen Mutationsrate. Im Zusammenhang mit der schon früher durchgeführten Untersuchung der Fehlermöglichkeiten (MICHAELIS 1949, 1953) ist damit die plasmatische Vererbung der *irregulare*-Mutante eindeutig belegt.

Besonders ausführlich wurden die *albomaculatum*-Mutanten untersucht, die in der Mehrzahl der Fälle normalen Pollen und funktionstüchtige Eizellen besaßen. Es wurden sämtliche Blüten auf gescheckten und einheitlich abgeänderten Ästen zu Kreuzungen verwendet und dabei nach Möglichkeit folgende Kreuzungen durchgeführt:

(1) Selbstungen von Blüten auf „weißen" oder gescheckten Ästen wurden nur in geringer Zahl hergestellt, wenn sich in den Blüten ausnahmsweise eine Anthere vor der Kastration geöffnet hatte. Nach Möglichkeit wurden die Blüten erst kurz vor dem Aufspringen der Antheren kastriert und

(2a) mit Pollen von Blüten grüner Seitenäste derselben Pflanze aus möglichster Nähe der gescheckten Blüten oder

(2b) mit Pollen normaler, grüner Klonpflanzen der *hirsutum*-Sippe Essen belegt.

Tabelle 1. *Blütenreziproke Kreuzungen einer irregulare-Pflanze mit normal*

	Anzahl der		F_1-Pflanzen des *irregulare*-Komplexes in %
	Kreuzungen	Pflanzen	
irregulare ♀	14	440	95,23
irregulare ♂	22	672	0,45

(3a) Der Pollen der kastrierten Blüte wurde auf alle Fälle zur blütenreziproken Kreuzung auf den grünen Seitenästen derselben Pflanze oder

(3b) auf den normalen Klonpflanzen verwendet. Dabei wurde zur Vermeidung von Pollenschlauchkonkurrenz nur wenig Pollen auf die Narben gelegt und der restliche Pollen zu weiteren Kreuzungen auf grün benutzt. Die Kreuzungen (1), (2a) und (2b) unterschieden sich nicht prinzipiell, ebensowenig (3a) und (3b) und wurden in Tabelle 2 zusammengelegt.

Die Zahlen der Tabelle 2 zeigen eindeutig, daß Vorkommen und Häufigkeit weißer und gescheckter Nachkommen ausschließlich von der Mutter bestimmt werden. Die Herkunft des väterlichen Pollens spielt keine Rolle. In allen Fällen, in denen aus der Analyse des Scheckungsmusters auf eine plasmatische Vererbung geschlossen wurde und in denen sich eine Kreuzungsanalyse durchführen ließ, konnte die Erwartung durch den Erbversuch bestätigt werden. Die Analyse der durch Umkombination entstandenen Plastidenmuster in den Zellen und der Muster erbverschiedener Zellen in den Geweben ist also in mancher Beziehung der Analyse der in den Folgegenerationen entstehenden Muster aus erbverschiedenen Individuen gleichwertig und vermag sie notfalls zu ersetzen. Da sich Plasmon-Umkombinationen vielfach nur im Soma abspielen und sich dort einer Kreuzungsanalyse entziehen, erscheint diese Erkenntnis von besonderer Wichtigkeit.

Der Prozentsatz weißer und gescheckter Keimlinge variiert nach Kreuzung auf gescheckten Pflanzenteilen und ist davon abhängig,

Tabelle 2. *Selbstungen und Kreuzungen mit albomaculatum-Schecken*

Nummer der *albomaculatum*-Mutter	Mischzellen	*albomaculatum* ♀								*albomaculatum* ♂							
		Zahl der ausgesäten Früchte	Keimprozent	Pflanzenzahl	rein weiße Sämlinge in %	gescheckte Pflanzen: wie ♀	gescheckte Pflanzen: ?	gescheckte Pflanzen: neuer Typ	*irregulare*-Komplex	Zahl der ausgesäten Früchte	Keimprozent	Pflanzenzahl	rein weiße Sämlinge in %	gescheckte Pflanzen: wie ♂	gescheckte Pflanzen: ?	gescheckte Pflanzen: neuer Typ	*irregulare*-Komplex
Aussaaten von Kreuzungen auf rein gelben, resp. weißen Ästen																	
55.4297. 35	+	1*	39,55	70	100,0	0	0	0	0	44	78,08	4960	0	0	1	4	0
55.4411. 27	+	8	0	0	—	—	—	—	—	3	37,65	125	0	0	0	0	0
56. 241. 44	+	1*	39,46	58	100,0	0	0	0	0	54	31,06	2354	0	0	3	0	0
56. 315. 62	+, ?	1*	18,18	22	100,0	0	0	0	0	6	30,68	212	0	0	1	0	1
56. 322. 52	+, ?	1*	20,75	33	100,0	0	0	0	0	8	41,96	532	0,19	0	0	0	0
56.1323. 82	+, 0	8	0	0	—	—	—	—	—	15	45,88	974	0	0	3	0	0
55.4466.102	0	1*	78,67	118	100,0	0	0	0	0	10	57,72	673	0	0	0	0	0
56.1319. 25	0	4	0	0	—	—	—	—	—	7	36,83	379	0	0	0	0	0
8	+ 6 ? 2 0 3	25		301	0 od. 100%	0	0	0	0	147		10209	2 = 0,02%	0	8 = 0,08%	4 = 0,04%	1 = 0,01%
															0,12 %		
Aussaaten von Kreuzungen auf gescheckten Ästen																	
55.4081.111	+	1*	18,57	26	23,1	3	0	0	0	8	75,88	786	0	0	0	1	3
55.4265. 74	+	1*	8,93	10	40,0	0	0	0	0	76	74,04	8344	0,012	0	2	2	6
55.4336. 50	+	1*	47,09	73	75,3	0	0	0	0	10	65,90	918	0	0	0	0	0
55.4411. 27	+	8	51,21	423	2,6	0	2	0	0	7	34,00	272	0	0	1	0	0
55.4462.200	+	2*	47,26	138	26,8	4	0	1	1	8	60,86	689	0	0	0	0	3
56. 16. 15	+	2*	37,50	90	72,2	0	0	0	0	42	55,35	3338	0,006	0	6	0	1

56. 273. 61	+	4	45,33	238	29,4	0	0	0	0	7	41,96	577	0	0	1	0	0
56. 323.136	+	1*	49,57	58	93,1	0	0	0	0	5	46,23	356	0	0	1	0	0
56.1001. 22	+	6	43,17	196	40,8	3	0	0	0	6	46,58	341	0	0	0	0	0
56.1175. 53	+	6	37,79	243	48,1	9	1	0	0	5	34,71	109	0	0	0	0	0
56.1175. 54	+	5	47,62	340	0	3	0	0	0	4	34,79	239	0	0	0	0	0
56.1319.173	+	2	10,59	25	16,0	0	0	0	0	4	37,56	163	0	0	0	0	0
53.2008. 31	?	2	61,11	66	45,4	0	0	0	0	3	11,94	24	0	0	0	0	0
53.2315. 83	?	3	55,47	76	53,9	0	0	0	0	5	24,09	232	0	0	0	0	1
55.4374. 81	?	2*	60,36	67	50,7	0	0	0	0	21	52,59	1329	0	0	0	1	0
56. 115. 62	+,0	3*	57,25	174	83,9	7	0	0	0	19	34,29	904	0,01	0	1	0	0
56.1323. 82	+,0	7	52,38	419	0	19	0	0	0	15	42,80	1918	0	0	2	0	0
53. 308. 30	0	2*	31,98	55	29,1	0	0	0	0	13	74,01	1470	0	0	0	2	2
53.2034. 71	0	1*	71,58	131	22,4	14	0	0	0	1	67,96	123	0	0	0	0	0
53.2110. 42	0	7*	61,36	335	22,0	10	0	0	0	16	65,67	1322	0	0	0	0	4
53.2545. 18	0	6*	52,03	295	27,5	12	0	0	1	16	31,01	713	0	0	0	0	2
55.4231. 10	0	2*	51,11	161	10,6	0	0	0	0	15	66,83	1370	0	0	0	1	0
55.4347.150	0	3*	60,69	176	26,1	0	0	0	0	17	64,63	1349	0	0	0	0	0
55.4385. 81	0	6	73,73	783	0	6	0	0	0	13	81,33	1760	0	1	0	2	2
24	+ 14 ? 3 0 9	83		4598	1115 = 22,1 %	90 = 2,0 %	3 = 0,07 %	1 = 0,02 %	2 = 0,04 %	337		28646	4 = 0,01 %	1 = 0,003 %	14 = 0,05 %	9 = 0,03 %	24 = 0,08 %
							0,09 %							0,08 %			

Aussaaten von Kreuzungen auf grünen Ästen

55.4081.111	+	2	81,41	311	0	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
55.4242. 81	+	16	74,00	1879	0	0	0	0	0	28	66,54	2591	0	0	0	0	0
55.4265. 74	+	3	40,36	180	0	0	0	0	0	3	88,06	459	0	0	0	0	0
55.4411. 27	+	11	44,21	698	0	0	1	0	0	14	46,59	895	0	0	1	0	0

Fortsetzung Seite 752.

* Nur der zum Nachweis der Plasmavererbung notwendige Teil der Samen ausgesät.

Tabelle 2 *(Fortsetzung)*

Aussaaten von Kreuzungen auf grünen Ästen

Nummer der *albo-maculatum*-Mutter	Mischzellen	*albomaculatum* ♀								*albomaculatum* ♂							
		Zahl der ausgesäten Früchte	Keimprozent	Pflanzenzahl	rein weiße Sämlinge in %	gescheckte Pflanzen: wie ♀	gescheckte Pflanzen: ?	gescheckte Pflanzen: neuer Typ	*irregulare*-Komplex	Zahl der ausgesäten Früchte	Keimprozent	Pflanzenzahl	rein weiße Sämlinge in %	gescheckte Pflanzen: wie ♂	gescheckte Pflanzen: ?	gescheckte Pflanzen: neuer Typ	*irregulare*-Komplex
55.4462.200	+	8	82,46	1067	0	0	0	0	1	15	74,53	1598	0	0	0	1	0
55.4470.200	+	5	72,66	553	0	0	0	0	0	4	70,04	490	0	0	0	0	0
56. 16. 15	+	3	56,83	233	0	0	0	0	0	8	42,21	420	0	0	1	0	0
56. 273. 61	+	4	45,57	257	0	0	0	0	0	2	30,70	66	0	0	0	0	0
56. 323.136	+	2	45,05	141	0	0	0	0	0	2	42,51	122	0	0	0	0	0
56.1001. 21	+	2	54,93	167	0	0	0	0	0	3	59,44	321	0	0	0	0	1
56.1175. 54	+	2	33,10	93	0	0	0	0	0	2	34,12	101	0	0	0	0	0
56.1319.173	+	2	44,80	99	0	0	0	0	0	2	44,76	111	0	0	0	0	0
56. 315. 62	+, ?	4	20,41	129	0	0	0	0	0	2	20,63	66	0	0	0	0	0
55.4361. 8	?	2	73,64	433	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
55.4401. 82	?	10	62,69	415	0	0	0	0	0	5	60,53	319	0	0	0	0	0
56. 115. 62	+,0	5	33,55	210	0	0	0	0	0	2	13.72	31	0	0	0	0	0
56.1323. 82	+,0	10	45,41	475	0	0	2	0	0	18	44,00	993	0	0	1	0	0
55.4211.200	0	7	83,27	891	0	0	0	1	0	12	70,76	1428	0	0	0	0	0
55.4231. 10	0	5	63,82	524	0	0	0	0	0	5	68,28	478	0	0	0	0	0
55.4364.147	0	24	66,97	1774	0	0	2	2	0	28	68,37	2950	0	0	2	0	0
55.4385. 38	0	3	84,05	390	0	0	0	0	0	6	51,97	383	0	0	0	0	0
55.4438.140	0	2	47,06	40	0	0	0	0	0	26	69,86	2325	0	0	1	1	0
55.4442. 81	0	6	81,35	881	0	0	0	0	1	10	62,20	930	0	0	0	0	0
55.4466.102	0	3	82,67	372	0	0	0	0	0	1	85,13	63	0	0	0	0	0
56.1319.172	0	4	35,01	209	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
56.1319.174	0	2	65,07	177	0	0	0	0	0	2	44,17	106	0	0	0	0	0
26	+ 15 ? 3 0 11	147		12598	0	0	6 = 0,05 %	3 = 0,02 %	2 = 0,02 %	200		17246	0	0	4 = 0,02 %	4 = 0,02 %	1 = 0,006 %
							0,07 %							0,05 %			

welchen Anteil die homo- und heteroplasmonischen Zelldeszendenzen an der Bildung der Eizellen nehmen. Die Nachkommenschaft rein weißer Äste besteht aus bleichen, bald absterbenden Keimpflanzen. Bei einigen Schecken mit extrem gestörter Plastidenentwicklung und mit anatomischen Entwicklungsstörungen verloren die Samen ihre Keimfähigkeit. Solche Kreuzungen auf rein weißen Ästen wurden vor allem zum Nachweis der mütterlichen Vererbung verwendet und kamen sofort zur Aussaat.

Bei den Kreuzungen auf gescheckten Ästen ist die Häufigkeit der abnormen Keimpflanzen mit dem leider meistens schlecht erkennbaren Scheckungsgrad der Fruchtknoten und Kelchblätter, weniger gut mit dem Scheckungsgrad der Blütentragblätter korreliert. Der überwiegende Anteil der Keimlinge ist auch hier in den meisten Fällen rein grün oder rein „weiß". Es ist dies ein Zeichen, daß in den meisten Fällen die Entmischung der plasmatischen Erbträger bei der Bildung der Eizellen sehr weit fortgeschritten war. Es lagen im Gewebe zwar noch weiße und grüne Zellen in nächster Nachbarschaft, die Eizellen waren aber meistens schon homoplasmonisch geworden. Gescheckte Keimpflanzen sind relativ selten und nur bei sehr feinen Scheckungsgraden zu erwarten. Kreuzungen auf solchen Blüten wurden meistens nicht ausgesät, um für spätere, ausführlichere Untersuchungen über die Plasmon-Umkombination über geeignetes *albomaculatum*-Material zu verfügen.

Der Vergleich der Kreuzungen von Blüten mit grünen Tragblättern, die in nächster Nähe von gescheckten Ästen standen, mit Kreuzungen auf völlig normalen Klonpflanzen kann Hinweise liefern, ob die erhöhte Häufigkeit von Schecken sekundär durch mutierte Kerngene induziert ist, wie das vor allem beim Mais (Rhoades 1943, 1946) und bei *Mentha* (Woods u. du Buy 1951) festgestellt worden ist. In diesem Falle wäre bei Kreuzungen auf den grünen Ästen gescheckter Pflanzen (besonders bei Selbstungen und bei Kreuzungen mit „weiß", resp. „gescheckt") ein über der spontanen Mutationsrate liegender Prozentsatz von Schecken zu erwarten gewesen. Das war nirgends der Fall, auch nicht bei den Pflanzen, in denen mehrere Plastidenabweicher nebeneinander gefunden worden waren.

Von besonderem Interesse war nun der genauere Vergleich der unter den *albomaculatum*-Nachkommen aufgetretenen Schecken mit den *albomaculatum*-Eltern und der Schecken aus der Kreuzung *albomaculatum* ♀ × normal ♂ mit den seltenen Schecken, die in der reziproken Kreuzung gefunden wurden. Auf die dabei auftretenden methodischen Schwierigkeiten wurde schon Seite 723 hingewiesen. Bei der Kreuzung *albomaculatum* ♀ × normal ♂ glich die Mehrzahl der gescheckten Pflanzen dem Scheckungstyp der Mutter. Es fanden sich aber auch einige wenige Pflanzen, deren Scheckungstyp von

dem der Mutter abwich. Es ist naheliegend, hier Neumutationen anzunehmen, um so mehr, als die Häufigkeit dieser Abweicher ungefähr der spontanen Mutationsrate entspricht.

In der Kreuzung normal ♀ × *albomaculatum* ♂ tritt wieder ein allerdings sehr geringer Prozentsatz von Schecken auf. Die genauere Untersuchung zeigte, daß diese Schecken nicht durch einen Plastiden-, resp. Plasmaübertritt aus dem Pollenschlauch in die Eizelle entstehen. Von den 1956 aus diesen Kreuzungen entstandenen 17 Schecken hatte nur 1 eindeutig denselben Scheckungstyp wie der Vater. Bei 3 Schecken war eine eindeutige Entscheidung nicht möglich. 13 Schecken waren aber deutlich von dem Vater verschieden, sei es, daß die Plastiden in ganz anderer Weise degenerierten, sei es, daß der Vater Mischzellen besaß, die der Tochterschecke fehlten oder umgekehrt, oder sei es, daß andere eindeutige Unterschiede der Musterbildung vorlagen. Bei allen diesen Schecken sind Neumutationen anzunehmen. Die Häufigkeit der Schekken aus der Kreuzung normal ♀ × *albomaculatum* ♂ entspricht der Häufigkeit in der Kreuzung normal ♀ × normal ♂ und der früher mehrfach festgestellten spontanen Mutationsrate. Unter diesen Verhältnissen ist es wahrscheinlicher, daß in den wenigen Fällen, in denen der Abänderungstyp der Tochter dem Vater entsprach, zufällig derselbe Abänderungstyp durch Mutation neu entstand, als daß väterliche Plastiden durch den Pollenschlauch in die Eizelle gelangten.

Bei *Epilobium* läßt sich also im Gegensatz zu früheren Annahmen (MICHAELIS 1935) kein Plastiden- oder Plasmaübertritt aus dem Pollenschlauch belegen. Mit diesem neuen Befund steht die hohe Konstanz des Erbplasmas in den Rückkreuzungsversuchen mit dem Vater in Einklang (MICHAELIS 1954a). Auch ließ sich in einer Kreuzung: *Ep. hirsutum* Essen ♀ × *Ep. parviflorum* Tübingen *albomaculatum* ♂ wahrscheinlich machen, daß die weißen Sektoren einer Bastardpflanze das *hirsutum*- und nicht das *parviflorum*-Plasma enthielten (MICHAELIS 1954c). Es wird nun auch verständlich, daß bei einer Kreuzung mit *albomaculatum* ♂-Pflanzen unter den Tochterschecken Entmischungsmuster entstanden, die denen des Vaters in keiner Weise glichen (MICHAELIS 1935, Abb. 2 und 5). Bei allen Versuchen, in denen ein Pollenschlauchplasma-Übertritt angenommen wird und seine Häufigkeit sich nicht grundsätzlich von der spontanen Abänderungsrate unterscheidet, dürfte es notwendig sein, die Schecken der Nachkommen gründlich mit der Scheckung der Eltern zu vergleichen, bevor ein Übertritt von Pollenschlauchplasma angenommen werden darf.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Vorliegende Publikation ist der zweite Teil der in diesem Band, S. 600—634 erschienenen Veröffentlichung.

An Hand einer cytologischen Untersuchung der experimentell induzierten Mutanten mit abgeänderten Plastidenmerkmalen wurden 8 cytomorphologisch verschiedene Abänderungstypen der Plastiden unterschieden. In allen Gruppen kommen teils Fälle einer echten Plastommutation (Mischzellen) vor, teils Fälle, bei denen eine Mutation der Plastidengene fraglich ist und auch Mutationen anderer plasmatischer Erbträger in Betracht zu ziehen sind. Bei der Mehrzahl der Mutanten tritt eine sehr ähnliche, aber zu verschiedenen Zeiten einsetzende und verschieden schnell ablaufende Degeneration der schon grün gefärbten Plastiden ein. Nur bei 1 Mutante wird die Entwicklung der Jungplastiden unterbrochen. Bei einigen Mutanten fallen unter bestimmten Umweltsbedingungen einige Plastidenteilungen aus, und es entstehen Riesenplastiden.

Die mutativ bedingte Plastidendegeneration kann sekundäre Effekte auslösen. Es können indirekt auch genetisch normale Plastiden in Mitleidenschaft gezogen werden. Die letzten Plastidenteilungen im Blatt können ausfallen, aber auch die letzten Zellteilungen können unterbleiben. Dadurch wird in den abgeänderten Geweben die Zahl der Plastiden je Zelle verändert. Fallen mehrere der letzten Zellteilungsfolgen im Blatt aus, so kommt es zu anatomischen Störungen und zu entwicklungsgeschichtlich interessanten Umwandlungen der Zellformen.

Im letzten Abschnitt wird über die Kreuzungsversuche mit den an Hand der Musteranalyse ausgelesenen Plasmonmutanten berichtet. Die reziproken Kreuzungen belegen in allen Fällen einen nicht mendelnden, mütterlichen Erbgang. Die Versuche zeigten weiterhin, daß bei *Epilobium* das Plasma ausschließlich von der Mutter geliefert wird. Die geringe Zahl von *albomaculatum*-Pflanzen, die in der Kreuzung normal ♀ × *albomaculatum* ♂ auftreten, entsteht durch Neumutation, nicht durch Übertritt von Pollenschlauchplasma in die Eizelle.

Der Verfasser dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung seiner Untersuchungen.

Literatur

Bartels, F.: Ungewöhnlich große Chloroplasten bei *Epilobium*-Bastarden. Protoplasma (Wien) **48**, 398—402 (1957). — Michaelis, P.: Zur Frage der Übertragung von Pollenschlauchplasma in die Eizelle und ihre Bedeutung für die Plasmavererbung. Planta (Berl.) **23**, 486—500 (1935). — Über Abänderungen des plasmatischen Erbgutes. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **83**, 36—85 (1949). — Der Nachweis der Plasmavererbung. Acta biotheor. (Leiden) **11**, 1—26 (1953). — Cytoplasmic inheritance in *Epilobium* and its theoretical significance. Advanc. Genet. **6**, 287—401 (1954a). — Versuche über die Ursachen der Plasmon-Umkombination. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **86**, 101—112 (1954c). — Über die Vererbung von Plastidenmerkmalen. Protoplasma (Wien) **48**, 403—418 (1957a). — Genetische, entwicklungsgeschichtliche und cytologische Unter-

suchungen zur Plasmavererbung. II. Über eine Plastidenmutation mit intracellularer Wechselwirkung der Plastiden, zugleich ein Beitrag zur Methodik der Plasmonanalyse und zur Entwicklungsgeschichte von *Epilobium*. Planta (Berl.) **50**, 60—106 (1957b). — Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. I. Teil. Planta (Berl.) **51**, 600—634 (1958). — Rhoades, M. M.: Genic induction of an inherited cytoplasmic difference. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **29**, 327—329 (1943). — Plastid mutations. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **11**, 202—207 (1946). — Woods, M. W., and H. G. du Buy: The action of mutant chondriogenes and viruses on plant cells with special reference to plastids. Amer. J. Bot. **38**, 419—434 (1951).

Weitere Literatur ist im ersten Teile der Veröffentlichung angegeben.

Dr. Peter Michaelis,
Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Abteilung für Plasmavererbung,
Köln-Vogelsang

Planta, Bd. 51, S. 757—769 (1958)

University College of the West Indies, Jamaica

STUDIES IN THE NYCTINASTIC MOVEMENT OF THE LEAF PINNAE OF SAMANEA SAMAN (JACQ.) MERRILL

I. A GENERAL DESCRIPTION OF THE EFFECT OF LIGHT ON THE NYCTINASTIC RHYTHM

By

J. H. PALMER and G. F. ASPREY*

With 9 Figures in the Text

(Eingegangen am 20. März 1958)

Introduction

Nyctinastic leaf movement is a fairly common phenomenon, particularly among tropical plants. In this movement the leaf parts, and generally the leaves themselves, move into a characteristic nocturnal position, which may be very different from the day position. Often, as for example in the *Leguminosae*, the nyctinastic leaf movement is brought about by the curvature of a special motor organ termed the pulvinus.

Early workers, for example LINDSAY (1790) and BRÜCKE (1848) studied the nyctinastic movement of the primary petiole of *Mimosa pudica*. This proved to be an unfortunate choice, for the nyctinastic movement of this organ is complicated by having two components, an early evening downward movement which is followed by a nocturnal upward movement (see VINES 1886, p. 541 for a full description). In addition the extreme seismonastic sensitivity of the petiole of *Mimosa*, makes it a difficult subject for experimental work. The nyctinastic movements of the lamina of the primary leaf of *Phaseolus vulgaris*, or *P. multiflorus* studied by PFEFFER (1875, 1909) and BÜNNING (1931) notably, and similarly the nyctinastic movements of the lamina of the primary leaf of *Canavalia ensiformis* investigated by KLEINHOONTE (1929, 1932), are much simpler. In *Phaseolus*, the lamina tilts downwards during the evening and the first half of the night until a position of maximum declination is attained in the early hours of the following day. This is followed by a slow reverse movement, which continues until the lamina is horizontal, at around mid-day. The movement is essentially the same in *Canavalia* although the maximum positions are attained much later, at approximately 9 a.m. and 3 p.m. respectively (KLEINHOONTE 1929). In both leaves the movement of the lamina is caused by the curvature of a basal secondary pulvinus.

* Now at the University College of South Wales and Monmouthshire.

Experiments with these three plants have shown that leaf movements, like other diurnal rhythms in plants, cannot be satisfactorily explained as a simple response to the alternation of day and night (Lindsay 1790, Pfeffer 1875, Bünning 1956) and hence an additional factor, the endogenous physiological rhythm (Bünning 1931, 1936) is believed to operate under abnormal conditions of illumination, so that the diurnal nature of the nyctinastic leaf movement is preserved. It is however a common observation that the alternate phases of the nyctinastic movement can be displaced in time by simply illuminating the plant at some other time of the day. This has been accounted for (Kleinhoonte 1932) by postulating that the alternative phases of the endogenous physiological rhythm are advanced or retarded in time, when the time of illumination of the plant is changed, so that the time of the "open" phase of the endogenous rhythm remains constant with respect to the beginning of the period of illumination.

Although in both *Canavalia* and *Phaseolus* the nyctinastic movement is sensitive to light, and the downward movement towards the nocturnal position can be induced by premature darkening, it has been found by Flügel (1949) for *Phaseolus* and Kleinhoonte (1932) for *Canavalia*, that the nyctinastic movement of greenhouse reared plants will not follow short cycles of light and darkness where the length of each light or dark period is 6 hours or less; instead the ordinary diurnal rhythm of leaf movement occurs. This is used as a strong argument in favour of the operation of a physiological endogenous rhythm, with a periodicity of roughly 24 hours.

As these conclusions are mainly based on studies of leaf movement in two plants it becomes important to know how widespread the occurrence on this endogenous physiological rhythm is among members of the *Leguminosae*, and to what degree it controls nyctinastic leaf movement. Since the authors had previously found that the leaves of the Leguminous tree *Samanea saman* (Jacq.) Merrill[1] were ideal for nyctinastic studies (Asprey a. Palmer 1955), some of the experiments of Kleinhoonte were repeated on the leaves of this plant, partly with the above object in view and partly to obtain information of the effects of exposing the leaves to unusual combinations of light and dark periods as an introduction to subsequent studies involving half pulvini.

Plant material

The secondary pulvini of the leaves of the common tropical tree *Samanea saman*, have several advantages for nyctinastic studies. The pulvini show a pronounced nyctinastic curvature, curving through an arc of from 90—150° during each phase of the movement, and the movement is completed relatively rapidly,

[1] Synonyms: *Enterolobium saman* (Jacq.) Prain, *Pithecolobium saman* (Jacq.) Bentham.

within 1—2 hours. Despite the well developed nyctinastic curvature, the pulvini are relatively insensitive to shock, it being necessary to shake the plant violently for as long as 10 minutes to initiate any seismonastic response. This characteristic, together with the fact that the secondary pulvini are comparatively large, being some 1 cm. long and 3–4 mm. broad even in the seedling, make them very suitable for experimental work.

Under natural conditions, the leaf parts are spread out more or less flat during the day, so that the tree canopy casts a heavy shade. Commencing early in the evening (approx. 5 p.m. in Jamaica) the leaf parts fold tightly together, and the petiole moves in an adaxial direction towards the stem. As a result of these movements, which are all caused by pulvinar curvature, there is a striking disappearance of the leaf canopy. The leaves remain in this folded nocturnal state until about 4 a.m., when an unfolding movement commences. This continues until the flat "open", or diurnal state is regained at approximately 6 a.m. The diurnal and nocturnal leaf positions are shown in Fig. 1. which also shows the large primary pulvinus at the base of each petiole and the secondary pulvinus at the base of each pinna. The tertiary pulvini, which move the pinnules, are too small to be seen in the photographs.

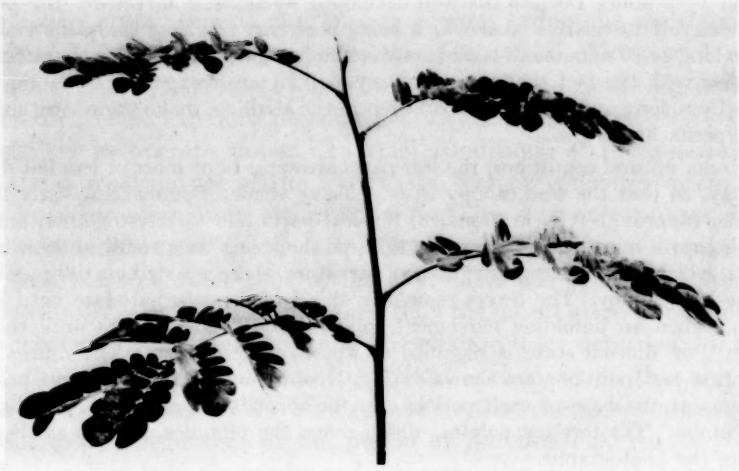
From Fig. 1 it can be seen that, while the primary and tertiary pulvini curve adaxially during the folding movement, the secondary pulvinus curves abaxially. Thus considering a leaf attached to an upright stem; during the folding movement the petiole is raised and approaches the stem, while the pinnules are raised until their upper surfaces make contact. The pinnae on the other hand sink downwards until they come into contact with each other. Thus the direction of movement of the pinnae is the same as that of the lamina of the primary leaf of *Phaseolus* and *Canavalia*.

It should be noted that the direction of movement of the pinna in *Samanea* is apparently not affected directly by gravity, for the pinna movement relative to the petiole, remains constant no matter how the petiole is orientated. By contrast the curvature of the secondary pulvinus of the primary leaf of *Phaseolus*, is geotropically very sensitive (ARSLAN, 1949).

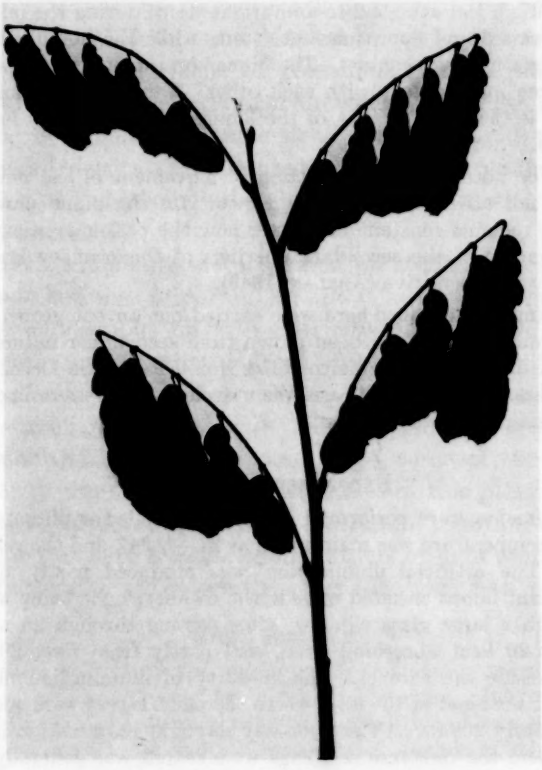
The experiments described here were carried out on pot grown seedlings, aged from 6—12 months, which had been grown from seed under natural daylight illumination. The daylength in Jamaica varies from 11 hours in December to a maximum of 13 hours in June. In all cases the movement of the terminal pair of pinnae at the tip of the petiole was studied.

Experimental methods

The experiments were performed inside a controlled environment cabinet, in which the air temperature was maintained at $27 \pm 1/2^{0}$ C, and the relative humidity at $80 \pm 5\%$. The artificial illumination was produced partly by five, 500 W tungsten filament lamps situated outside the cabinet; light being admitted to the interior through a large glass window, after passing through an air cooled layer of Chance ON 20 heat absorbing glass, and partly from five, 20 W fluorescent tubes placed inside the cabinet. The intensity of illumination produced in the upper half of the cabinet at the level where the plant leaves were normally situated was approximately 200 ft. c. The noon-day daylight illumination intensity in the greenhouse where the *Samanea* seedlings were reared was generally of this order. In preliminary trials, *Samanea* seedlings were kept for a month in this cabinet without any noticeable effects being seen in either the growth of the plants or the nyctinastic leaf movement.



a



b

Fig. 1 a and b. Young seedling of *Samanea saman*, showing leaves in the "open" daytime position (a), and in the "folded" nocturnal position (b)

The nyctinastic movement of the pinna was recorded using the apparatus drawn in Fig. 2. The petiole was first fixed in a clamp in such a way that the two terminal pinnae were horizontal when in the "open" position. One pinna was then attached by thread to an aluminium front writing point which traced the nyctinastic movement on the smoked drum of an ultra-slow, electric kymograph (supplied by C. F. Palmer Ltd., London). The pinna was counterweighted so that the pull of the lever on the pinna was small. The records shown in this paper are inverted copies of the smoked drum tracing, with the result that upward and downward curves on the record indicate upward movement of the pinna towards the "open" position, and downward movement towards the "folded" position respectively. Because of the variation in pinna length, no quantitative comparison can be made of the amplitude of the curves of different records.

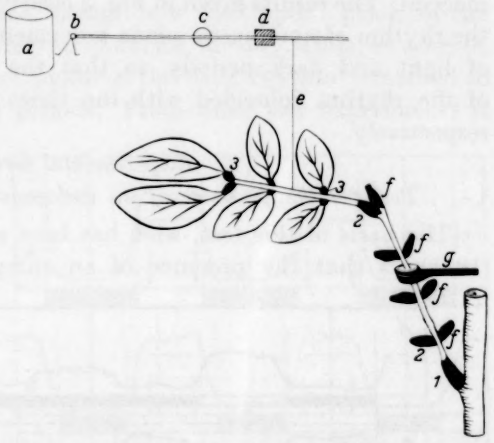


Fig. 2. Diagram of the apparatus used for recording pinna movement of *Samanea saman*. *a* = recording drum of kymograph; *b* = front writing point; *c* = pivot; *d* = counterweight; *e* = thread; *f* = stumps of removed pinnae; *g* = clamp. *1* = primary pulvinus; *2* = secondary pulvini; *3* = tertiary pulvini

Experimental results

Experimental series 1. Effect of illuminating plants at different times in a 24 hr. period

A series of experiments was performed in each of which plants were exposed to 24 hr. cycles of 12 hr. light : 12 hr. darkness, but the time

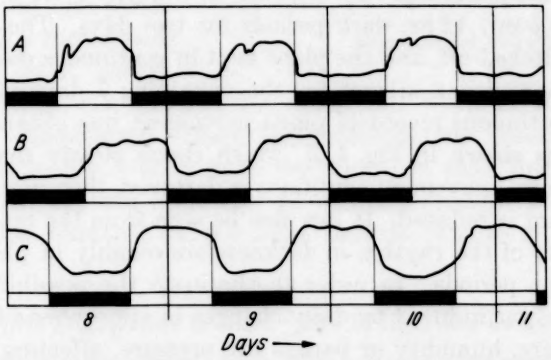


Fig. 3. Three records of nyctinastic pinna movement of plants grown under the following 24 hr. cycles of light and darkness; (*A*) light, 6 a.m. — 7 p.m.; dark, 7 p.m. — 6 a.m. (*B*) light, 12 mid-day — 12 midnight; dark, 12 midnight — 12 mid-day. (*C*) light, 6 p.m. — 6 a.m.; dark, 6 a.m. — 6 p.m. Showing synchronisation of nyctinastic movement to the light and dark periods. Experimental series 1

incidence of exposure to a light or dark period was different in each experiment. In each case the plant was exposed to the particular cycle for about one week before recording of the pinna movement was commenced. The results given in Fig. 3 clearly show that in each experiment the rhythm of nyctinastic pinna movement became adapted to the cycle of light and dark periods, so that the "open" and "folded" phases of the rhythm coincided with the times of the light and dark periods respectively.

Experimental series 2

Test for the presence of an endogenous physiological rhythm

The basis of this test, wich has been successfully used by BÜNNING (1931), is that the presence of an endogenous physiological rhythm

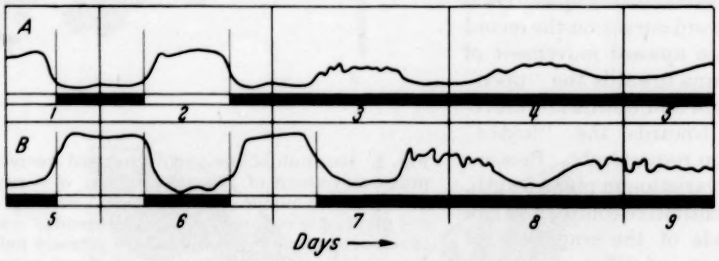


Fig. 4. The nyctinastic movement of the leaf pinna in continuous darkness in the constant environment cabinet. *A*. record of a plant exposed to 24 hr. cycle of 12 hr. light (6 a.m. — 6 p.m.), and 12 hr. dark (6 p.m. — 6 a.m.) periods for 2 days, and kept subsequently for 3 days in darkness. *B*. record of a plant exposed to 24 hr. cycle of 12 hr. light (6 p.m. — 6 a.m.), and 12 hr. dark (6 a.m. — 6 p.m.) for 6 days and subsequently for $2^1/_2$ days in darkness. Experimental series 2

can be detected by the occurrence of leaf movements while the plant is kept under constant environmental conditions.

A *Samanea* plant was first exposed to a 24 hr. cycle of 12 hr. light (6 a.m. — 6 p.m.):12 hr. dark periods for two days. The illumination was then switched off, and the plant kept in continuous darkness in the constant environment cabinet for the remaining 7 days of the experiment. A continuous record of pinna movement was obtained. Part of this record is shown in Fig. 4, *A*, which shows clearly that the 24 hr. rhythm of pinna movement continues in darkness, though the amplitude of the rhythm is reduced. It can also be seen from the record that the "open" peaks of the rhythm in darkness are roughly in phase with the previous light periods. In order to eliminate the possibility that the dark rhythm was induced by daily changes in atmospheric factors, such as temperature, humidity or barometric pressure, affecting slightly the environmental conditions inside the cabinet, the experiment was repeated in a modified form. This time the leaves of the plant used had been conditioned so that they were "open" at night and "folded" during the

day. This was done by illuminating the plant at night from 6 p.m. — 6 a.m. and keeping it dark during the rest of the 24 hr. period for 6 days. The record obtained when this plant was subsequently kept in continuous darkness in the constant environment cabinet (Fig. 4, *B*) showed a clear 24 hr. rhythm of leaf movement, though now the "open" phase of the movement occurred at night instead of during the day. Thus, as a result of this the peaks of the "open" phase of the dark rhythm remained in phase with the previous light periods. From these two experiments it is therefore concluded that an endogenous physiological rhythm of a roughly diurnal period occurs in *Samanea*. The way in which the amplitude of the pinna movement gradually diminished in continuous darkness, as is shown in Fig. 4, suggests that the strength of this endogenous physiological rhythm is enhanced by periodic exposure of the plant to illumination.

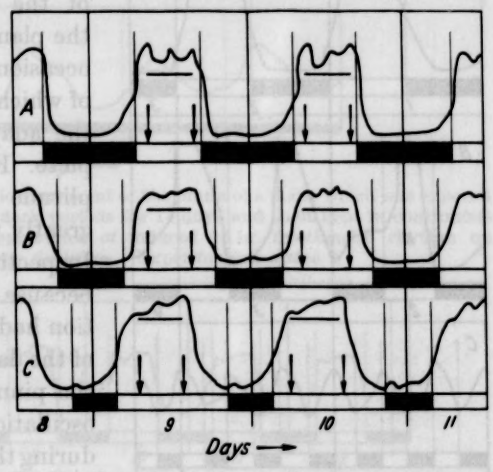


Fig. 5. Records of the nyctinastic movement of pinnae grown under 24 hr. cycles of light and dark periods of the following duration: (*A*) 10 hrs. light (7 a.m. — 5 p.m.), 14 hrs. darkness. (*B*) 14 hrs. light (5 a.m. — 7 p.m.), 10 hrs. darkness. (*C*) 18 hrs. light (3 a.m. — 9 p.m), 6 hrs. darkness. Records show the non-adaptation of the nyctinastic rhythm to abnormally long light periods. Note that the period of the open phase of the movement (indicated by arrows and line) remains roughly constant with respect to the end of the preceding dark period. Experimental series 3

Experimental series 3
Effect of abnormally long periods of illumination

In each experiment of this series a plant was exposed to 24 hr. cycles consisting of a long light period coupled with a correspondingly short dark period. Again the plants were exposed for about one week to the particular light : dark combination before leaf recording was commenced. The results given in Fig. 5 show that the length of the "open" phase of the nyctinastic rhythm cannot be prolonged beyond about 12 hrs. by increasing the duration of the light periods, within a 24 hr. cycle.

Experimental series 4
Effect of exposure to short cycles of light and darkness

Experiments were carried out in which plants were exposed to either 16 hr. cycles of 8 hr. light : 8 hr. darkness, or 8 hr. cycles of 4 hr. light: 4 hr. darkness. In both cases, during the first few days of each experi-

ment, leaf movement was extremely irregular, but by the 4th day, it was clear that the pinna movement was following the cycle of light and dark periods instead of showing a 24 hr. rhythm of movement. In Fig. 6 the results of two experiments are shown together with a record of pinna movement for a normal 24 hr. cycle, for comparison. It can be seen from records *B* and *C* that by the end of 6 days the rhythm of pinna movement in both experiments had become adapted to the new periodicity of the light : dark cycle to which the plant was exposed. Except for an occasional irregularity, an example of which is shown in Fig. 6 (marked X) the adaptation appeared to be complete. Fig. 6 also shows that the amplitude of the pinna movement was greatly reduced under the 8 hr. cycle. Inspection showed that this was because the completely "folded" position had not been attained by the end of the dark period, with the result that the pinna movement consisted of an oscillation from the "open" position during the light period to a semi-folded state at the end of the dark period.

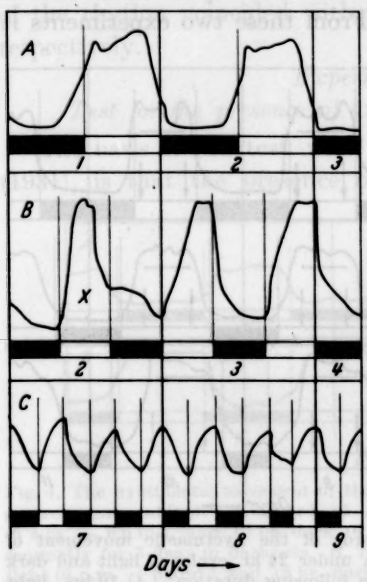


Fig. 6. Three records of nyctinastic pinna movement under light/dark cycles of different duration. (*A*) control: exposed to 24 hr. cycle of 12 hr. light: 12 hr. dark. (*B*) 16 hr. cycle of 8 hr. light : 8 hr. dark. (*C*) 8 hr. cycle of 4 hr. light : 4 hr. dark. In each case the number of days of previous exposure to the particular light/dark combination inside the constant environment cabinet is given. Experimental series 4

Experimental series 5

The nature of the induced 16 hr. rhythm of pinna movement

A plant was exposed to a 16 hr. cycle of 8 hr. light:8 hr. dark periods for 13 days. On the fourteenth day the illumination was switched off, so that the plant was in continuous darkness in the constant environment cabinet for the remaining 5 days of the experiment. The record of pinna movement from the thirteenth to the seventeenth day is shown in Fig. 7. This shows that the induced 16 hr. nyctinastic rhythm disappeared immediately in continuous darkness, and was replaced by an approximate 24 hr. rhythm of low amplitude, the "open" peaks of which were roughly in phase with the last light period which was from 12 midnight — 8 a.m. on the fourteenth day. When this experiment was repeated using another plant, similar results were obtained. In this case the period of adaptation to the 16 hr. cycle was seven days, and the last light period was given from 8 a.m. — 4 p.m. on the seventh day.

Experimental series 6

The nature of the induced 8 hr. rhythm of pinna movement

The plant which had been adapted to an 8 hr. light : dark cycle in Experiment 4 was used. On the eighth day, commencing at 6 a.m. the length of the light and dark periods was increased to 12 hrs., so making the cycle length 24 hr. instead of 8 hr. Results are given in Fig. 8 which shows that the 8 hr. rhythm of pinna movement was immediately re-

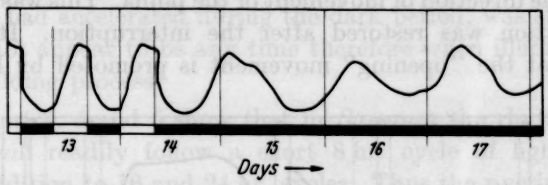


Fig. 7. Part of the record of nyctinastic movement of the pinna of a plant which was exposed to a 16 hr. cycle of 8 hr. light : 8 hr. dark periods for 14 days and then kept in continuous darkness. Showing immediate disappearance of induced 16 hr. nyctinastic rhythm on transfer to continuous darkness. Experimental series 5

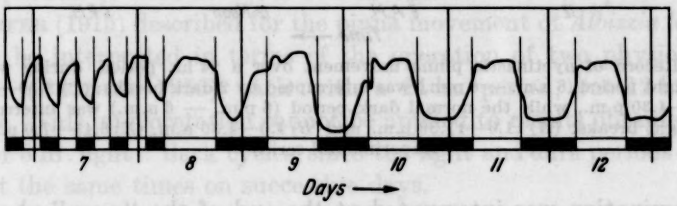


Fig. 8. Nyctinastic record of pinna movement of a plant exposed to 8 hr. cycles of 4 hr. light : 4 hr. darkness for 7 days and then to 24 hr. cycles of 12 hr. light (6 a.m. — 6 p.m.), 12 hr. darkness (6 p.m. — 6 a.m.). Figure shows the immediate disappearance of the 8 hr. nyctinastic rhythm. Note that while the length of the open phase of the movement immediately increases to the normal length of approximately 12 hrs., the length of the folded phase is abnormally short during the first two 12 hr. dark periods. Experimental series 6

placed by a much stronger 24 hr. one. There was no intervening period of irregular movement, such as occurred when the plant was introduced to an 8 hr. cycle of light : dark period. However, it will be seen that the length of the folded phase was abnormally short during the first two 12 hr. dark periods.

Experimental series 7

Effect of short breaks during a 24 hr. light : dark cycle

The plant used had previously been kept for some days under a 24 hr. cycle of 12 hr. light (6 a.m. — 6 p.m.) : 12 hr. dark (6 p.m. — 6 a.m.) periods. In the experiment the dark period was interrupted by two light breaks, the first (*A*) from 11.00—11.30 p.m., and the second (*B*) from 4.00—4.30 a.m., while in the succeeding light period the illumination was switched off twice, from 8.30—9.00 a.m. (*C*) and from 4.00

to 4.30 p.m. (*D*). Finally, in the next dark period a light break was given from 6.45—7.00 p.m. (*E*). During the light breaks the entire plant was illuminated by light of the same intensity as that of a normal light period.

The record of pinna movement (Fig. 9) during the course of the experiment, shows that at the beginning of the light period the secondary pulvinus that caused the pinna movement was sensitive to light, for when illumination ceased during interruption (*C*) there was an immediate reversal of the direction of movement of the pinna. This was halted when the illumination was restored after the interruption. It is therfore apparent that the "opening" movement is promoted by light. When

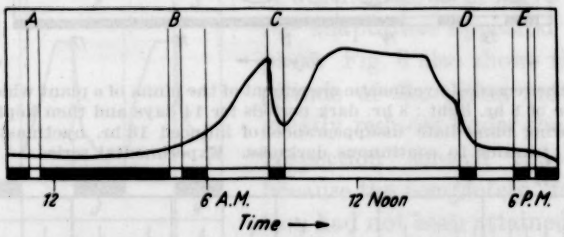


Fig. 9. Record of nyctinastic pinna movement over a 24 hr. period, during which the normal light period (6 a.m. — 6 p.m.) was interrupted by 2 dark breaks: (*C*) 8.30—9.0 a.m., (*D*) 4.0—4.30 p.m., while the normal dark period (6 p.m. — 6 a.m.) was interrupted by 3 light breaks: (*A*) 11.0—11.30 p.m., and (*B*) 4.0—4.30 a.m. (*E*) 6.45—7.0 p.m., Experimental series 7

the illumination was interrupted at the end of the "open" phase (*D*), then the folding movement was promoted, indicating that light retards the folding movement. However, it is apparent that the sensitivity of the pulvinus to light is less at the end of the "open" phase than at the beginning, for when the illumination was restored after interruption (*D*) there was no reversal of the folding movement. When the dark period was interrupted at (*A*), (*B*) and (*E*), there was no response, showing that the pulvinus is not sensitive to light at these times.

This experiment was repeated using another plant and similar results were obtained.

Discussion

The results of Experiment 2 show the presence of an endogenous physiological rhythm in *Samanea*. The way in which this physiological rhythm can control leaf movement is shown in Experiment 3, where leaf folding occurred about 12 hrs. after "opening" even though the leaves were still illuminated. This control appears to be exerted in part by causing a variation in the sensitivity of the pinna movement to illumination, over a diurnal (24 hr.) period. Thus from Fig. 9 (Exper. ser. 7)

it can be seen that the movement appears to be sensitive to light from around dawn until mid-afternoon, and that there-after the sensitivity declines, until by 7 p.m. the pulvinus no longer responds to light. This insensitivity is maintained during the night until the following day. The experiment also shows that during the phase of sensitivity to light, illumination always serves to promote unfolding of the leaves. Even at the end of the sensitive phase, when the illumination was restored at 4.30 p.m. (Fig. 9, *D*) after a 30 minute dark period, the folding movement, which had accelerated during the dark period, was slowed down. There does not appear to be any time therefore when illumination promotes the folding process.

Experiment 3, 4 and 5 show that in *Samanea* the rhythm of pinna movement will readily follow a short 8 hr. cycle of light and dark periods in addition to 16 and 24 hr. cycles. Thus the nyctinastic movement differs from that of *Canavalia* and *Phaseolus* where adaptation to a very short light:dark cycle does not occur.

Adaptation to a 12 hr. cycle of 6 hr. light : 6 hr. dark periods, such as PFEFFER (1915) described for the pinna movement of *Albizzia lophantha* can be interpreted in terms of the operation of two physiological rhythms (BÜNNING 1956), each with a 24 hr. period, but 12 hrs. out of phase. This interpretation cannot be applied to results obtained with 16 hr. or 8 hr. light : dark cycles, since the light and dark periods do not recur at the same times on successive days.

The occurrence of short cycles of nyctinasty in *Samanea saman*, cannot be explained in terms of a modification of the length of the physiological rhythm since, as Fig. 7 (Exper. ser. 5) shows, the leaf movement reverts to a 24 hr. periodicity as soon as the stimulus of 8 hr. light and dark periods is removed. This makes it clear that the physiological rhythm is unaffected by the shorter light and dark periods. However, Fig. 7 also shows that the first "open" peak of the leaf movement in the dark occurs roughly 24 hours after the last 8 hr. light period. This suggests that in *Samanea* the endogenous physiological rhythm remains quiescent, as far as pinna movement is concerned during the abnormally short cycles of light and darkness, and only begins to exert an influence when environmental conditions have remained constant for longer than 8 hours.

Summary

The nyctinastic movement of the leaf of the tropical leguminous tree, *Samanea saman* is described. The effect of light on the nyctinastic movement of the terminal pair of leaf pinnae has been studied

experimentally, under conditions of relatively constant temperature and humidity. The experiments were performed upon seedlings which had been reared under natural daylight in greenhouses. The following results were obtained.

1. In *Samanea* leaves there occurs an endogenous physiological rhythm with a periodicity of approximately 24 hours. This influences the nyctinastic pinna movement causing folding to take place after about 12 hours, if the plant is exposed to abnormally long light periods.

2. Judging from its effect upon the movement of the pinna in darkness, the strength of the endogenous physiological rhythm is increased by daily illumination of the plant, while the "open" and "folded" phases of the nyctinastic rhythm are caused to coincide with the daily light and dark periods respectively.

3. The normal 24 hour period of the nyctinastic pinna movement can be reduced to 16 or 8 hours by exposing the plant to cycles of 8 hour light/8 hour dark periods, or 4 hour light/4 hour dark periods respectively. The period length of the endogenous physiological rhythm is not affected by these short non-diurnal light/dark cycles.

4. When the plant is exposed to daily periods of illumination from 6 a.m. to 6 p.m., then the tendency of the pinna to move towards the "open" position is promoted by light from approximately 8 a.m. to 6 p.m. During the rest of the 24 hour period there is no direct response of the pinna to illumination. Thus the folding movement is never promoted by light.

It is concluded that the response of the pinna to short cycles of light and darkness can be accounted for on the assumption that the endogenous physiological rhythm only exerts an effect when the length of a light or dark period is longer than about 8 hours; when the periods are shorter than this, then the pinna responds directly to light and darkness by either "opening" or "folding".

References

Arslan, N.: Studies on the geo-reactions of the primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. Rev. Fac. Sci. Univ. Instanbul, Ser. B **14**, 198–242 (1949). — Asprey, G. F., and J. H. Palmer: A new interpretation of the mechanics of pulvinar movement. Nature (Lond.) **175**, 1122 (1955). — Brücke, E.: Über die Bewegungen der *Mimosa pudica*. Arch. Anat. Physiol. wiss. Med. **1848**, 434—455. — Bünning, E.: Untersuchungen über die autonomen tagesperiodischen Bewegungen der Primärblätter von *Phaseolus multiflorus*. Jb. wiss. Bot. **75**, 139–480 (1931). — Die Entstehung der Variationsbewegungen bei den Pflanzen. Ergebn. Biol. **13**, 235—347 (1936). — Die entwicklungsphysiologische Bedeutung der endogenen Tagesrhythmik bei den Pflanzen. Naturwissenschaften **33**, 271—274 (1946). —

Endogenous rhythms in plants. Ann. Rev. Plant Phys. **7**, 71—90 (1956). — FLÜGEL, A.: Die Gesetzmäßigkeiten der endogenen Tagesrhythmik. (Beobachtet an den Blattbewegungen von *Phaseolus multiflorus*.) Planta (Berl.) **37**, 337—375 (1949). — KLEINHOONTE, A.: Über die durch das Licht regulierten autonomen Bewegungen der *Canavalia*-Blätter. Arch. Néerl. Sci. exact. natur. IIIb **5**, 1 (1929). — Untersuchungen über die autonomen Bewegungen der Primärblätter von *Canavalia ensiformis* DC. Jb. wiss. Bot. **75**, 679 (1932). — LINDSAY, J.: An enquiry into the nature of the motion of the *Mimosa pudica* or sensitive plant. Roy. Soc. Lond. Letters & Patents 1741—1806. (1790.) — PFEFFER, W.: Die periodischen Bewegungen der Blattorgane. Leipzig 1875. — The physiology of plants, Vol. 3. Trans. by A. J. Ewart. Oxford 1898. — Untersuchungen über die Entstehung der Schlafbewegungen der Blattorgane. Abh. sächs. Akad. Wiss., math.-phys. Kl. **30**, 259—472 (1909). — Beiträge zur Kenntnis der Entstehung der Schlafbewegungen. Abh. sächs. Ges. Wiss. **34**, 3—154 (1915). — VINES, S. H.: Lectures in the physiology of plants. Cambridge 1886.

Dr. J. H. PALMER,
Botany Department, The University College (Jamaica, W. Indies)

Planta, Bd. 51, S. 770—785 (1958)

University College of the W. Indies, Jamaica

STUDIES IN THE NYCTINASTIC MOVEMENT OF THE LEAF PINNAE OF SAMANEA SAMAN (JACQ.) MERRILL

II. THE BEHAVIOUR OF UPPER AND LOWER HALF-PULVINI

By

J. H. PALMER and G. F. ASPREY*

With 9 Figures in the Text

(Eingegangen am 20. März 1958)

Introduction

Evidence was presented in Part I which demonstrated the presence of an endogenous physiological rhythm in *Samanea saman*. It was shown that this rhythm controls the nyctinastic movement of the leaf pinna in *Samanea saman* when the plant is exposed to abnormally long light periods, and correspondingly short dark periods, but has no effect when the plant is exposed to 16 hr. cycles of 8 hr. light/8 hr. dark periods, or 8 hr. cycles of 4 hr. dark/4 hr. light periods. Thus the secondary pulvinus which actuates the leaf pinna shows three responses. Firstly there is the response to darkening of the plant during the course of the light period; secondly there is the response to the endogenous rhythm in continuous darkness or when the plant is exposed to abnormally long light periods, and thirdly there is the response to abnormally short cycles of light and dark periods.

This triple response leads to a consideration of the magnitude and location of the forces which bring about an alternate expansion and shrinkage of the upper and lower halves of the cortex of the pulvinus, which is the cause of the nyctinastic movement. It is recognised that at the cellular level, the movement is brought about by changes in turgor of the cortical cells (MOSEBACH 1940) and not by any active contraction of protoplasm (BERT 1867), though how these turgor changes come about is not understood. Using the principle of turgor changes, there are three hypotheses which will explain the nyctinastic curvature of a secondary pulvinus of the kind that occurs in *Phaseolus* and *Samanea*.

Hypothesis 1. In the straight daytime position all the cells of the pulvinar cortex are in equilibrium with each other. At the end of the day this equilibrium is destroyed by the cells of the lower half becoming flaccid so permitting the expansion of the cells of the upper

* Now at University College of S. Wales and Monmouthshire.

half. As the pulvinus is inextensible it curves into the folded nocturnal position to accommodate this increase in size of the upper half of the cortex, the lower half becoming compressed in the process. The movement would be assisted by the weight of the pinna. The return movement is brought about by the cells in the flaccid compressed lower half, reabsorbing water which was lost during the folding movement. Thus the lower half expands and in so doing forcibly compresses the cells of the upper half of the cortex, causing them to lose water or liquid, and as a result the upper half of the cortex shrinks back to its original size. As these changes occur the pulvinus unfolds to regain its straight daytime shape.

In this hypothesis the lower half of the cortex is regarded as the active centre of the movement; the upper half merely expanding and shrinking passively in inverse relationship to the compression force exerted by the lower half. This hypothesis was originally put forward by BRÜCKE (1848) to explain the seismonastic movement of the primary pulvinus of *Mimosa pudica*, but to some extent it was adopted as an explanation of nyctinastic movements generally, doubtless because the first nocturnal position of the *Mimosa* leaf is the same as that which results from a shock stimulus.

Hypothesis 2. This hypothesis was proposed by PFEFFER (1875) to explain the observation that the "rigidity" of the primary pulvinus of *Mimosa pudica* (BRÜCKE 1848), and the secondary pulvinus of *Phaseolus multiflorus* (PFEFFER 1875) is greater at night than during the day. From the result of his experiments, PFEFFER suggested that on darkening all the cortical cells of the secondary pulvinus of *Phaseolus* begin to expand, but that the rate or force of this expansion is greatest in the upper half of the pulvinus, with the result that the expansion of the cells in the lower half is quickly arrested, and soon they are forcibly compressed by the expanding upper half. This results in the pulvinus curving downwards, but before the curvature has proceeded very far, equilibrium is attained between the two halves of the cortex and further movement is arrested. In this condition all the cells are highly turgid, this explaining the increased "rigidity" of the pulvinus in darkness. The return movement results from the upper half losing turgor more rapidly than the lower so that this latter half expands and compresses the upper half. As a result of this the curved pulvinus begins to straighten, and this continues until a new equilibrium position, the day time position, is attained.

It can be seen that in this hypothesis both halves of the pulvinus are considered to react similarly to illumination or darkness, the flexions of the pulvinus resulting from the different rates at which the two

halves of the pulvinus respond to a stimulus. Although Pfeffer suggested that this response to light and darkness might account for some aspects of nyctinastic movement (1875), he had doubts about the general applicability of this hypothesis (1898). Schwendener (1898) repeated Pfeffer's experiment, using the leaves of *Phaseolus*, but was unable to confirm that both halves of the pulvinus in isolation, expanded on being suddenly darkened.

Hypothesis 3. The third possible hypothesis is that pulvinar movements result from one half of the cortex of the pulvinus expanding, while simultaneously, but independently, the opposite half is becoming flaccid and passively shrinking. In this hypothesis both halves of the pulvinus contribute equally to the movement. Asprey and Palmer (1955) reported briefly that under natural illumination, the isolated upper and lower halves of the secondary pulvinus of *Samanea saman* can independently sustain a nyctinastic pinna movement. In each case the period of the nyctinastic rhythm was roughly 24 hours. This suggests that the third hypothesis rather than the first or second is more applicable to the nyctinastic movements of the pinna of *Samanea*.

However, in Jamaica the natural daylength is approximately 12 hours, which happens to coincide with the length of one half period of the endogenous physiological rhythm that has been shown to be present in *Samanea* (Part I). Therefore while each half of the pulvinus of *Samanea* has been shown to exhibit a nyctinastic rhythm of movement, of similar periodicity, it would be possible to explain this on the grounds that under a 12 hour natural daylength one half of the pulvinus could exhibit a diurnal rhythm in response to the cycle of 12 hour day and night periods, while the other half could simultaneously show a similar rhythm of movement, but as a response to the operation of the endogenous physiological rhythm.

Should this be so, then under abnormal illumination conditions of the kind used in the experiments described in Part I, one or other of these responses might become dominant, and hence determine the type of nyctinastic rhythm exhibited by the whole pulvinus. This would give a relatively simple explanation of the triple response of the pulvinus of *Samanea*.

In view of this it was considered necessary to investigate experimentally the possibility that the diurnal rhythm of nyctinastic movement shown by the isolated upper and lower halves of the pulvinus of *Samanea*, under natural daylight, may not be a response to the same stimulus. This was done by recording the nyctinastic pinna movement induced by isolated upper and lower half-pulvinii, when exposed to the illumination conditions produced in some of the experiments described in Part I.

Experimental procedure

Pot grown seedlings, approximately 9 months old, were used in all the experiments. The experiments were carried out in the constant environment cabinet already described (Part I). The movement of the terminal pair of pinnae of the third or forth fully formed leaf was recorded using the apparatus and methods described in Part I. The behaviour of the secondary pulvinus was inferred from the record of pinna movement. Thus upward movement of the pinna towards the "open" position indicated that the pulvinus was unbending to assume the straight daytime cylindrical shape, while downward movement of the pinna indicated that the pulvinus was curving into the inverted U nocturnal shape.

Half pulvini were prepared by cutting away the cortex above or below the horizontal median plane of the pulvinus (Fig. 1) using a sharp razor blade. Care

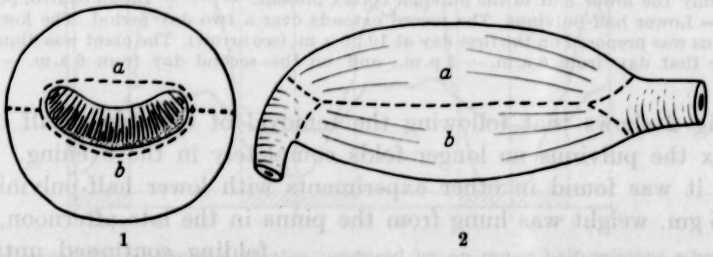


Fig. 1. Showing method used to prepare half-pulvini. A lower half-pulvinus is prepared by removing part (*a*) of the pulvinar cortex, and an upper half by removing part (*b*). 1 = Transverse section. 2 = Longitudinal view of whole pulvinus

was taken to leave intact the central vascular cylinder together with its surrounding sheath of sclerenchyma, since this central core functions as a hinge between the pinna and petiole. Immediately after the operation the cut surface of the pulvinus was smeared with vaseline. The completeness of the operation was checked at the end of each experiment by cutting transverse sections of the half-pulvinus, and examining them microscopically.

Experimental results

Effect of removing the entire cortex of the pulvinus

A preliminary series of experiments showed that, when the entire cortex of the secondary pulvinus of *Samanea* is cut away, then all nyctinastic curvature of the pulvinus ceases. This therefore shows that the seat of the nyctinastic movement is in the cortex of the pulvinus.

The effect of removing half the pulvinar cortex on the amplitude of the nyctinastic rhythm

Lower half-pulvinus. When the upper half of the cortex was removed, there always followed a striking reduction in the amplitude of the nyctinastic rhythm of the pinna. A typical result is shown in Fig. 2. That this was not due to injury of the remaining tissues of the pulvinus, was established by examining transverse sections microscopically. These showed that in all experiments only a few cells

below the cut surface had died, the vast majority of the cells in the remaining part of the cortex appeared perfectly normal.

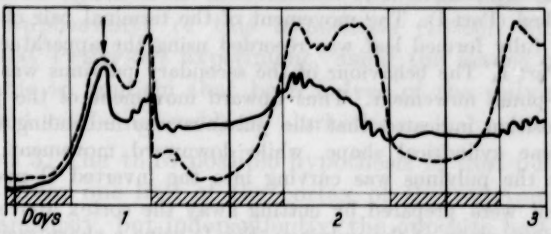


Fig. 2. Showing the reduced amplitude of nyctinastic movement of the secondary pinna, with only the lower half of the pulvinar cortex present. – – – – Intact control pulvinus. ——— Lower half-pulvinus. The record extends over a two day period. The lower half-pulvinus was prepared on the first day at 10.30 a.m. (see arrow). The plant was illuminated on the first day from 6 a.m. — 4 p.m., and on the second day from 6 a.m. — 6 p.m.

Fig. 2 shows that following the removal of the upper half of the cortex the pulvinus no longer folds completely in the evening. However, it was found in other experiments with lower half-pulvini that if a 5 gm. weight was hung from the pinna in the late afternoon, then folding continued until the pinna hung vertically downwards. The following day the unfolding movement was greatly reduced unless the weight was removed in the night.

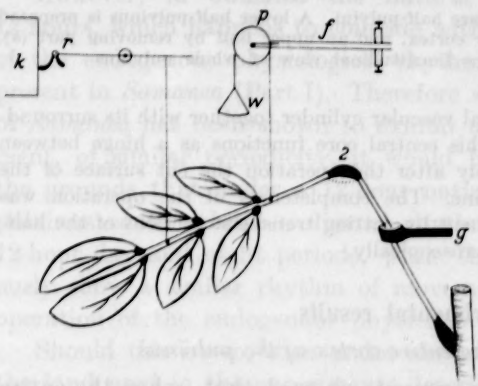


Fig. 3. Showing method used to keep the cortical cells of the upper half-pulvinus "2" under compression. *W* = weight suspended by a thread running over pulley "*p*" and attached to the pinna. The pulley is held by a freely swinging arm "*f*":"*g*", clamp fixing the main petiole: "*r*", the writing arm recording on the Kymograph "*k*,,

Upper half-pulvinus. The method described by ASPREY and PALMER (1955) for keeping the cortex of the upper half-pulvinus under compression was used in these experiments; a length of thread was tied to the pinna and after being passed over a pulley a weight pan was attached to the end (Fig. 3). In one experiment with the thread attached to the pinna at a distance of 5 cm. from the pulvinus, it was found that a distinct nyctinastic rhythm appeared when a 4 gm. weight was placed in the weight pan. When the weight was increased to 5 gm., the nyctinastic movement ceased and the half-pulvinus remained permanently in the "open" position. Conversely when the weight was decreased to 3 gm. during the night after the pulvinus had folded, then unfolding did not occur the following

day and the pulvinus remained permanently folded. As the compression force required to produce a nyctinastic movement varied from one upper half-pulvinus to another, it generally took several days after the excision operation to determine the size of the weight required to maintain maximum movement of the pulvinus.

Because of this, it was not possible to examine the immediate effect of removing the lower half of the pulvinus, but the amplitude of the nyctinastic movement which was eventually produced by the above method, was always less than that of the untreated control (Fig. 4).

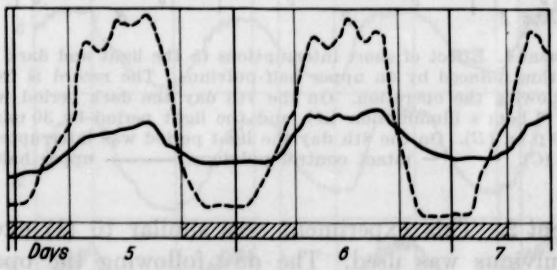


Fig. 4. Showing the nyctinastic rhythm produced by an upper half-pulvinus when the cortex of the pulvinus is suitably compressed. The plant was illuminated each day from 6 a.m. — 6 p.m. – – – – Intact control pulvinus. ——— Upper half-pulvinus

The effect of short interruptions in a diurnal cycle of light and dark periods

If one half of the pulvinus responds directly to light or its absence, then it should be possible to induce an immediate response in that half of the pulvinus at any time by illuminating the half-pulvinus during a dark period, or darkening it during a light period.

Experiment 1. An upper half-pulvinus was prepared and a nyctinastic rhythm induced by counter-weighting as described above. Seven days after the operation, the dark period was interrupted in the middle by switching on the illumination for one hour (Fig. 5, *A*). The intensity of illumination was the same as that prevailing during the light period. The record of pinna movement showed a slight response by the half-pulvinus and no response by the entire control pulvinus. During the following light period the illumination was cut off for 30 minutes towards the end of the light period (Fig. 5, *B*). Immediately the half-pulvinus began to fold at a rapid rate, while the control showed a similar, though less rapid response. When the illumination was restored, neither the half-pulvinus nor the control showed any response; in both, folding continued so that by the end of the light period they had practically reached the position of maximum folding (Fig. 5). On the eighth day the light period was again interrupted, this time near the middle of the period from 11 a.m. — 12 noon (Fig. 5, *C*). Again both

half-pulvini commenced to fold when the illumination was cut off, but this time the half-pulvini recovered when the illumination was restored.

Fig. 5. Experiment 1. Effect of short interruptions to the light and dark periods on the nyctinastic rhythm induced by an upper half-pulvinus. The record is from the 7th to the 8th day following the operation. On the 7th day the dark period was interrupted at midnight by 1 hour's illumination (*A*), and the light period by 30 minutes darkness from 2.30 — 3.0 p.m. (*B*). On the 8th day the light period was interrupted from 11 a.m. to 12 noon (*C*). – – – – intact control pulvinus. ——— upper half-pulvinus

Experiment 2. This experiment was similar to (1) except that a lower half-pulvinus was used. The day following the operation, the dark period was interrupted in the middle by a light break of one hour's duration (Fig. 6, *A*). The half-pulvinus showed no response, while the

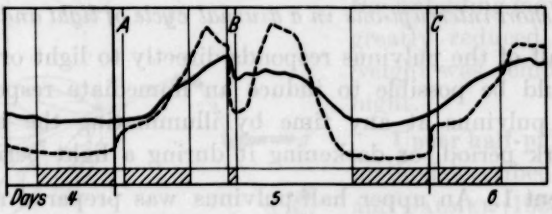


Fig. 6. Experiment 2. Effect of short interruptions to the light and dark periods on the nyctinastic movement induced by a lower half-pulvinus. Record is for the fifth and sixth days following the operation. On the fifth and sixth days the dark periods were interrupted at midnight by 1 hour's illumination (*A*) and (*C*) while on the fifth day the light period was interrupted by 30 minutes darkness from 9.30 — 10.0 a.m. (*B*). – – – – intact control pulvinus. ——— lower half-pulvinus

control unfolded slightly, and continued to unfold at a slow rate during the remaining part of the dark period. It can be seen that similar results were obtained when the experiment was repeated the following night (Fig. 6, *C*). The intervening light period was also interrupted near the beginning for 30 minutes (Fig. 6, *B*). Both the half-pulvinus and the control responded to this by folding. When the illumination was restored, this tendency was reversed in both pulvini, though in the case of the half-pulvinus the reverse movement was slight and the original open position was not reattained.

The effect of exposure to short non-diurnal cycles of light and darkness

Experiment 3. A plant was moved into the constant environment cabinet and exposed to a continuous cycle of 8 hour light, 8 hour dark periods. An upper half-pulvinus was immediately prepared from one of the pair of terminal pulvini of the 4th leaf, the other was used as a control. At the same time a lower half-pulvinus was prepared from the 4th leaf. During the following three days adjustments were made to the counter-weight attached to the pinna moved by the upper half-pulvinus, until a strong nyctinastic rhythm was obtained. On the fourth

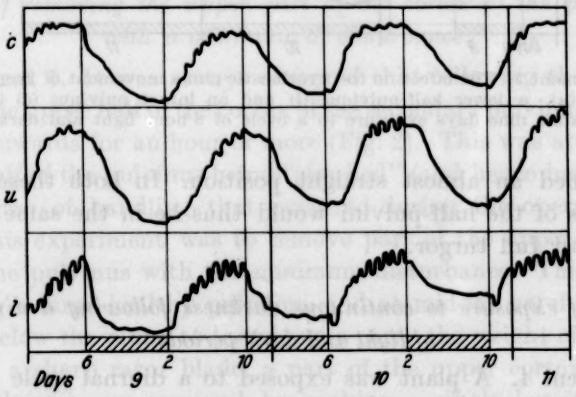


Fig. 7. Experiment 3. The effect on the nyctinastic pinna movement, of exposing an upper half-pulvinus (*u*), a lower half-pulvinus (*l*) and an intact pulvinus (*c*) to a cycle of 8 hour light, 8 hour dark periods. The records are for the sixth and seventh days following the operations to prepare the half-pulvini

day recording of the movement of all three pulvini was commenced. In Fig. 7 the record of nyctinastic movement for the sixth and seventh day is shown. From this it can be seen that both the upper and lower half-pulvini, like the control, developed a distinct non-diurnal nyctinastic rhythm of a 16 hour periodicity.

In order to test whether this new 16 hour rhythm had any permanency, the plant was kept in complete darkness after the end of the ninth day. The effect of this on the nyctinastic rhythm is shown in Fig. 8. It can be seen that the 16 hour rhythm disappeared immediately, and in the case of the control and lower half-pulvinus it was replaced by a weak diurnal rhythm, which was in phase with the last light period (2—10 p.m., ninth day). A careful examination of the original record of the movement of the upper half-pulvinus during the tenth and eleventh days showed the occurrence of an extremely small diurnal rhythm which was also in phase with the last light period.

It is interesting to see from the records that, while the control pulvinus moved into a characteristic half-open position during the period

of continuous darkness, the upper half-pulvinus assumed the position of maximum folding (for a half-pulvinus), while the lower half-pulvinus assumed an almost straight position. In both these cases the cortical cells of the half-pulvini would thus be in the same condition, *i.e.* at almost full turgor.

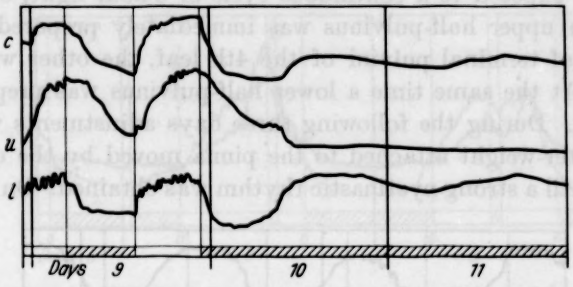


Fig. 8. Experiment 3. The effect on the nyctinastic pinna movement of keeping an upper half-pulvinus (*u*), a lower half-pulvinus (*l*) and an intact pulvinus (*c*) in continuous darkness after nine days exposure to a cycle of 8 hour light and dark periods

The effect of exposure to continuous darkness following a diurnal cycle of light and dark periods

Experiment 4. A plant was exposed to a diurnal cycle of 12 hour light, 12 hour dark periods in the constant environment cabinet. On the first day an upper half-pulvinus and control pulvinus were obtained from the third fully formed leaf, and a lower half-pulvinus from the fourth fully formed leaf. Recording of the pinna movement induced by all three pulvini was commenced on the third day. On the fourth day, following the end of the light period (6 a.m. — 6 p.m.),

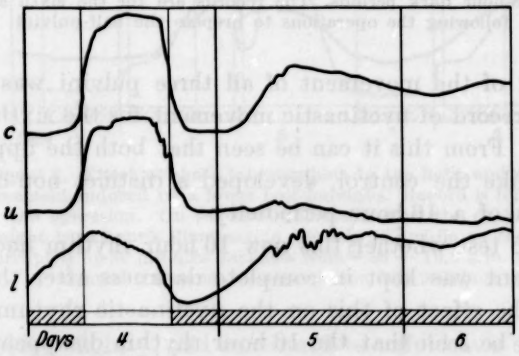


Fig. 9. Experiment 4. The effect on the nyctinastic pinna movement of keeping an upper half-pulvinus (*u*), a lower half-pulvinus (*l*) and an intact pulvinus (*c*) in continuous darkness after four days exposure to a cycle of 12 hour light and dark periods

the plant was kept in constant darkness. The record of pinna movement from the fourth to the sixth day is shown in Fig. 9. From this it can be deduced that all three pulvini continued to show a diurnal nyctinastic rhythm in continuous darkness, although as in experiment 3, the amplitude of the movement shown by the upper half-pulvinus was very small. It can also be seen that in darkness, all three pulvini eventually assumed the same relative positions shown by the pulvini at the end of experiment 3.

Effect of removing the upper part of the cortex of the pulvinus with a minimum of disturbance

Experiment 5. It was always observed that following the operation to remove the upper half of the cortex of the secondary pulvinus, the pinna sagged downwards for an hour or more (Fig. 2). This was attributed to the lower half of the pulvinus being "shocked" (and hence losing turgor) by the degree of handling that occurred during the operation. The object of this experiment was to remove part of the upper-half of the cortex of the pulvinus with the minimum disturbance. This was done by selecting a large healthy pulvinus, and at midday carefully placing a support below the pinna to temporarily carry the weight of the pinna. Then using a sharp razor blade, a part of the upper cortex of the secondary pulvinus was removed by making a single longitudinal cut in the horizontal plane. The cut surface was quickly smeared with vaseline and the pinna support immediately removed. The whole operation took about 1 minute to complete.

During the following 30 minutes it was observed that the pulvinus slowly curved upwards, raising the pinna so that it finally came to be pointing upwards at an angle of 25° to the horizontal. This new position was maintained during the afternoon. In the evening the pulvinus curved downwards at the same time as the other secondary pulvini on the plant. Inspection during the night showed that the folding movement had not been fully completed in the case of the operated pulvinus. This experiment was repeated on several occasions and the same result obtained. It was found that this different behaviour could not be induced by temporarily supporting the pinna during the day, without operating on the pulvinus.

The results of this experiment suggest that during the day when the pulvinus is in the straight position, the cells of the lower half of the cortex of the pulvinus are still capable of effectively absorbing more water and expanding further, but are prevented from doing so, not only by the pressure exerted by the weight of the pinna, but partly also by the pressure exerted by the cells of the opposite half of the cortex.

Discussion

The mechanics of the nyctinastic curvature of the secondary pulvinus

In 1955 we briefly outlined a theory of the mechanics of the nyctinastic movement of the secondary pulvinus of *Samanea*. This can now be re-examined in the light of the experimental results described above. The downward folding curvature of the half-pulvinus was then explained as the result of the cells in the lower half of the cortex becoming unable to withstand the compressive force produced by the weight of the pinna. This was based on the observation that if this compressive force is removed by placing the pulvinus on its side, then the folding curvature disappears. The development of this inability of the cells to withstand pressure is presumably the result of a reduction in the water retaining powers of the cortical cells. Therefore water moves out of the protoplast, and the cell becomes compressed to a smaller size. As a consequence of this the whole pulvinus curves downwards, under the weight of the pinna. This will bring about a progressive reduction in the mechanical moment of the pinna about the pulvinus, until eventually it will equal the new reduced diffusion pressure of the vacuolar contents of the cortical cells in the lower half of the pulvinus. A new equilibrium will then be attained and no further downward curvature of the pulvinus will occur.

Where the folding movement occurs in the intact pulvinus, the role of the upper half of the pulvinar cortex needs to be considered. The results of experiment 5 show that in the unfolded daytime position the cells of the upper half of the cortex exert a pressure on those of the lower, while from the fact that upper half-pulvini curve downwards in the evening (Fig. 4), it can be deduced that in the intact pulvinus this pressure increases towards the end of the light period and during the first part of the following dark period, where the light and dark periods are of 12 hours duration. Therefore the folding movement is apparently the result of the cells of the lower half yielding under the pressure exerted by the pinna and also to the increasing pressure exerted by the cells of the upper half of the cortex.

In experiment 3 the record of pinna movement for the control pulvinus (Fig. 7c) showed that when the light and dark periods were reduced to 8 hours duration, then the pulvinus continued to fold slowly throughout the whole dark period. A similar result was reported in Part I. Fig. 7 also shows that while the lower half-pulvinus had ceased moving by the middle of each dark period, the upper half-pulvinus continued to fold slowly throughout the length of each dark period. This therefore suggests that the slow folding of the intact pulvinus during each 8 hour dark period is probably due to the progressive expansion of the upper half of the pulvinar cortex.

This effect can also be seen to operate where the pulvinus is exposed to the more normal 12 hour light and dark periods. Thus from Figs. 2 and 4 it can be seen that the entire control pulvinus continues to fold for about 3 hours after the beginning of the dark period, so that the final phase of the folding movement is completed in darkness. Fig. 2 also shows that the lower half-pulvinus had reached the position of maximum downward curvature by the end of the light period, and consequently it remained stationary during the first part of the dark period. By contrast Fig. 4 shows that the upper half-pulvinus continued to curve downwards for more than 6 hours after the beginning of the dark period. It therefore appears that in the intact pulvinus it is the expanding upper half of the cortex which brings about the final stage of the folding movement.

Turning to the unfolding movement, Figs. 2 and 6 show that the lower half-pulvinus begins to unfold before the end of the 12 hour dark period. Assuming that no change occurs in the weight of the pinna during the dark period, then this unfolding movement in the lower half-pulvinus must be initiated by physiological changes within the cortical cells of the pulvinus, enabling them to reabsorb the water, or liquid, which was expelled from the protoplast during the folding movement. As a result of this inflow of water, the cells will expand so causing the pulvinus to straighten and raise the pinna. This will continue until the increasing moment of the pinna about the pulvinus equals the diffusion pressure of the water molecules in the cortical cells, when a new equilibrium will be established. This will be the daytime position. The role played by the upper half of the pulvinar cortex in the unfolding movement of the intact pulvinus can be inferred from the nyctinastic record induced by an upper half-pulvinus, shown in Fig. 4. This record shows that, although the compressive force exerted by the weight was relatively constant throughout the 24 hour period, the half-pulvinus began to unfold towards the end of each dark period, and this continued at a slow rate for most of the following light period. This indicates that the cells in the upper half of the cortex were losing turgor during this period and consequently being compressed by the action of the weight. Thus in the intact pulvinus it would seem that the cells of the upper half of the cortex are passively losing turgor during the unfolding movement, thereby facilitating the expansion of the lower half, which is the primary cause of the unfolding movement.

On this interpretation of the mechanics of the movement therefore, the upper half of the cortex is considered to play no part in assisting the opening movement, but may actually hinder it, since energy is required to compress the cells composing it. This conclusion is supported by the results of experiment 5. If this explanation is correct

it would be expected that following removal of the upper half of the pulvinus, the opening movement would be enhanced. However, from Figs. 2 and 6 it can be seen that this does not occur. In all, five opening movements of lower half-pulvini are shown for the two figures, and on each occasion the rate and extent of the opening movement is less than that of the control intact pulvini. This anomalous behaviour suggests that it may not be altogether correct to treat the two halves of the cortex of the pulvinus as entirely separate independent units in the intact pulvinus. Thus it may be that in the intact pulvinus, one half of the cortex acts as a reservoir for solutes or water, at a particular phase of the movement. Thus even though one half may not be mechanically assisting a particular stage of the movement, it may be augmenting the activity of the other half by supplying materials necessary for the movement.

An alternative explanation of this anomaly is that following the removal of the upper half of the cortex, the cell walls at the cut surface lose their elasticity and so restrict the activity of the remaining cells of the lower half of the cortex.

Figs. 4, 5 and 7 show that the isolated upper half-pulvinus does not fold during the dark period to the same extent as the intact control pulvinus. However, this can be readily explained on the grounds that under the experimental conditions used, the cortex of an upper half-pulvinus is subjected to a relatively constant compression force, exerted by the weight. Whereas in the intact pulvinus it has been argued above that towards the end of the 12 hour light period, there is a relaxation of the pressure acting on the upper half of the cortex, due to the cells in the lower half of the pulvinus losing turgor, and to the declining moment of the pinna weight as it sinks downwards. As a result of this reduction in external pressure the cells of the upper half of the cortex in the intact pulvinus are able to expand to a greater degree than would be possible in a half-pulvinus under the experimental conditions used. This conclusion is supported by the finding described on page 774, that if the size of the weight compressing the upper half-pulvinus is reduced during the light period, then full folding occurs in the following dark period.

Factors controlling the nyctinastic rhythm in each half of the pulvinus

The records of nyctinastic pinna movement actuated by upper and lower half-pulvini, show clear responses to the presence of an endogenous physiological rhythm. Thus from Fig. 2, the record shows that unfolding of the lower half-pulvinus began several hours before the end of the dark period that followed the operation, while the folding movement began well before the end of the following light period

and was practically completed by the time the dark period commenced. Similar effects are shown in Fig. 4 where the rhythm of pinna movement was induced by an upper half-pulvinus. Here it will be seen that on the fifth day folding began two hours before the end of the light period, while on the following day, unfolding commenced two hours before the end of the dark period.

The results of short interruptions in the continuity of the light and dark periods also suggest the operation of an endogenous physiological rhythm, for here a diurnal change in the sensitivity of the pulvinus to light can be seen. Thus in Experiment 1, it was found that the upper half-pulvinus showed only a very slight response to illumination given during the middle of the dark period (Fig. 5, *A*) and none at all to illumination following a short dark interval of 30 minutes, given three hours before the end of the light period (Fig. 5, *B*), although light promotes the unfolding movement at the beginning of each light period. A similar diurnal change in light sensitivity was shown by the lower half-pulvinus studied in experiment 2. Here Fig. 6 shows that there was no response to a short period of illumination given during the middle of the dark period, on the fifth and sixth days, but when the illumination was restored, following a short dark interval from 9.30 — 10.0 a.m., that is near the beginning of a light period, then a clear response to illumination took place (Fig. 6, *B*). Experiments 1 and 2 also show that both, upper and lower half-pulvini retain the sensitivity of the intact pulvinus to interruptions in the light period, for both began to fold when the illumination was temporarily cut off. It may therefore be that, as in the intact pulvinus, light only promotes unfolding of the half-pulvinus, although further experiments would be required to establish the validity of this conclusion.

The third response of the intact pulvinus, that of following a short non-diurnal cycle of light and dark periods, was also shown by an upper and lower half-pulvinus in experiment 3 (see Fig. 7). From Figs. 8 and 9 it can be seen that the endogenous physiological rhythm exhibited by the upper and lower half-pulvini is unaffected by the short light and dark periods, as was the case with the intact pulvinus.

The general conclusion therefore appears to be that each half of the pulvinus, possesses the full range of responses exhibited by the intact pulvinus, so that the possibility of explaining the different responses of the intact pulvinus in terms of a differential sensitivity of the two halves of the pulvinus, must be rejected.

The experiments also show that the response of each half of the pulvinus to a given stimulus is fully complimentary, suggesting that if the cells in one half of the pulvinus respond to a stimulus by gaining

turgor, those in the opposite half respond by losing turgor. This conclusion could be objected to on the grounds that this is only apparently the case, for two reasons; (a) not all the physiologically upper half or lower half cells of the cortex were removed in the operations, or (b) a new polarity is established following the removal of one half of the pulvinus so that the missing half is effectively replaced physiologically.

Although microscopic examination showed that the great majority of the cells of the unwanted half of the pulvinus could be removed by the excision method employed, it is possible that a few cells remained. These, however, would be situated either on or almost on the surface of the vascular cylinder about which the flexions of the pulvinus occur. Therefore the leverage effect of any pressure exerted by such cells would be extremely small, making it unlikely that they could either remain at equilibrium with the combined pressure exerted by all the cortical cells of the intact half during periods of no movement of the pulvinus, or that they could compress the cells of the intact half sufficiently to move the pinna through an arc of 45°, the range of movement commonly shown by half-pulvini.

Since the cortical cells are unspecialised morphologically, it is quite possible that a new polarity is established in the cortex of the pulvinus, after one half is removed, and that as a result of this a physiological new half develops. However, in the case of an upper or lower half-pulvinus, such a new half would be either above or below the median line of the pulvinus respectively. It would therefore be unable to replace the missing half mechanically, and in fact would produce an opposite reaction, by exhibiting a similar response to the missing half. For example, if a physiological upper half developed in a prepared lower half-pulvinus, then on the theory outlined above, the cells in the physiological upper half would expand, following withdrawal of light towards the end of a light period, but since any effect they produced would operate below the median line of the pulvinus, this would oppose the folding of the half-pulvinus. This could be the reason why the range of the movement of the half-pulvinus is always less than that of the intact pulvinus. This investigation is continuing.

Summary

A method is described for preparing *in situ*, upper and lower half-pulvini from the secondary pulvinus of the leaf of *Samanea saman*. The nyctinastic responses of the upper and lower half-pulvinus produced by this method, has been investigated by studying the movement of the attached pinna. The following results were obtained for experiments carried out under constant conditions of temperature and humidity.

1. The amplitude of the nyctinastic pinna movement caused by either an upper or a lower half-pulvinus was always less than that produced by the intact pulvinus.

2. Both the upper and lower half-pulvinus showed a diurnal rhythm of curvature in continuous darkness, although the movement of the upper half-pulvinus was very slight. The upper half-pulvinus tended to assume the "closed" position and the lower half the "open" position. It is therefore apparent that both halves of the pulvinus in isolation can respond to the endogenous physiological rhythm.

3. Both half-pulvini exhibited the same responses to light, and light: dark rhythms as the intact pulvinus. Thus both showed a diurnal rhythm of sensitivity to light, and also both responded to exposure to cycles of 8 hours light/8 hours darkness, or 4 hours light/4 hours darkness, by developing 16 or 8 hour rhythms of curvature respectively.

The mechanics of the nyctinastic movements of the intact pulvinus are re-examined in the light of these results. It is concluded that in general the hypothesis of Asprey and Palmer, namely that the diurnal rhythm of pulvinar curvature results from one half of the pulvinar cortex expanding while simultaneously, but independently, the opposite half is becoming flaccid, provides the most satisfactory explanation of the movement.

The results also show that the responses of the intact pulvinus cannot be accounted for on the hypothesis that the upper and lower halves of the cortex of the pulvinus are unequally sensitive to the stimulus of either light periodicity or the endogenous rhythm.

References

Asprey, G. F., and J. H. Palmer: A new interpretation of the mechanics of pulvinar movement. Nature (Lond.) **175**, 1122 (1955). — Bert, P.: Recherches sur les mouvements de la sensitive (*Mimosa pudica* Linn.) Soc. Sci. Phys. Nat. Bordeaux Mem. **4**, 11—46 (1867). — Brücke, E.: Über die Bewegungen der *Mimosa pudica*. Arch. Anat. Physiol. wiss. Med. **1848**, 434—455. Reprinted in: Pflanzenphysiologische Abh. 35—53. Leipzig 1898. — Mosebach, G.: Untersuchungen über die tagesperiodischen Bewegungen der Blattgelenke von *Phaseolus*. Jb. wiss. Bot. **89**, 20—88 (1940). — Pfeffer, W.: Die periodischen Bewegungen der Blattorgane. Leipzig 1875. — The Physiology of plants, Vol. 3, Trans. by A. J. Ewart. Oxford 1898. — Schwendener, S.: Die Gelenkpolster von *Phaseolus* und *Oxalis*. Ges. bot. Mittheil. **20**, 246—252 (1898).

Dr. J. H. Palmer,
Botany Department, The University College (Jamaica, W. Indies)

Planta, Bd. 51, S. 786—802 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

ÜBER ZWEI NEUE ARTEN VON ABSIDIA AUS TUNESIEN, A. PARRICIDA UND A. TUNETA

Von

O. RENNER und J. MUSKAT

Mit 22 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. März 1958)

In Bodenproben aus Tunis, die der jüngere Autor im Rahmen seiner Dissertation (MUSKAT 1955) auf Schimmelpilze untersuchte, fand sich zweimal eine *Absidia*, die auf einer anderen Art derselben Gattung schmarotzte. Die Proben waren etwa 20 km nördlich von Kairouan auf einem Acker in 20 cm Tiefe entnommen (Nr. 273 und 274, April 1952). Andere aus tunesischen Böden isolierte Species waren *A. (Lichtheimia) ramosa* Lendn. und *A. (Tieghemella) cylindrospora* Lendner.

I. Absidia (Tieghemella) parricida

a) Die saprophytische Entwicklung

Auf Bierwürzeagar werden die etwa 2:2,5 μ messenden Sporen aus den Sporangien bei Zimmertemperatur in 7 Std zu 3,5 μ großen Kugeln, in 24 Std vergrößern sie sich auf 8—9 μ und werden eckig. Nach 40 bis 48 Std treibt die jetzt 15 μ große Spore mehrere Keimschläuche, die sich bald verzweigen. Abb. 1 zeigt einige Zustände. Mitunter sprossen anstelle schlanker Schläuche kuglige Ausstülpungen, die in einigen Tagen zu Häufchen kleiner Blasen werden; ein frühes Anzeichen der Neigung zur Bildung von Blasenzellen.

Die normalen Keimmycelien sind nach 3 Tagen mit bloßem Auge eben sichtbar, nach 6 Tagen haben sie einen Durchmesser von 2 mm bei höchstens 1 mm Höhe; Zygoten (Abb. 4, 5) werden jetzt schon gebildet, aber noch keine Sporangien. Am 9. Tag war der Durchmesser der am Rande noch immer sehr feinen Mycelien 8—9 mm. Erst nach einem Monat, wenn der Durchmesser 40 mm und die Höhe des Rasens stellenweise 3 mm betrug, erschienen Sporangienträger. Das Wachstum ist also für eine Mucoracee ungewöhnlich langsam, noch langsamer als das von *Parasitella* nach BURGEFF (1924, S. 93). Das gut entwickelte Substratmycel reicht in älteren Kulturen 10—15 mm tief in den Nährboden.

Noch solange die Keimmycelien ganz klein und lappig sind, schicken sie feine, wenig verzweigte Suchhyphen in die Luft (Abb. 2a). Wenn

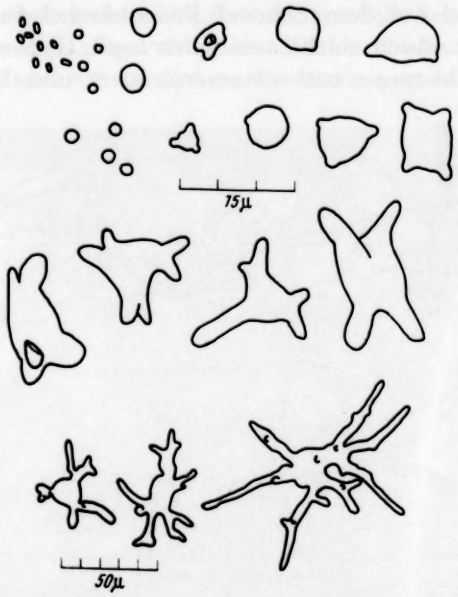


Abb. 1. *Absidia parricida*, Sporen und ihre Keimung. (Gezeichnet MUSKAT)

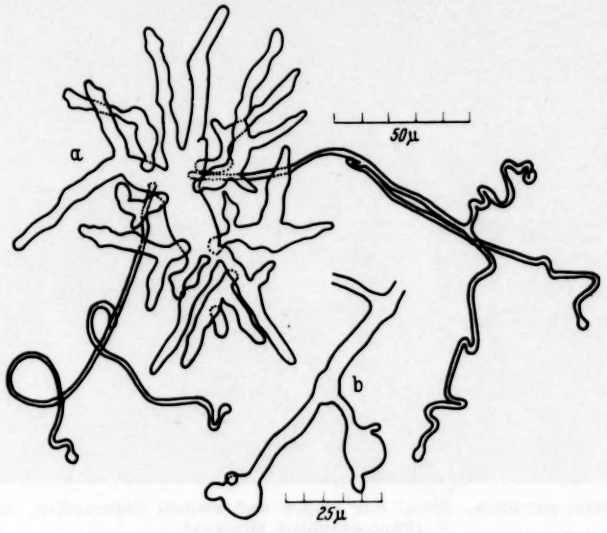


Abb. 2a u. b. *Absidia parricida*. a Keimmycel mit Fanghyphen, b blasig angeschwollene Hyphenenden. (Gezeichnet MUSKAT)

diese umfallen, schwellen ihre Spitzen auf dem Substrat blasenförmig an (Abb. 2b), und ähnliches geschieht auch später noch mit Ästen des langfädigen Luftmycels (Abb. 3, 4). Da und dort entstehen dann aus Blasen und Fäden zusammengesetzte Knäuel, die glatt sein, aber

auch seitlich und auf dem Scheitel Fadenbüschel ausstrahlen lassen können (Abb. 5). Auch solche anfänglich losen Hyphen werden in die Glomeruli mit einbezogen und metamorphosiert, und das Resultat sind

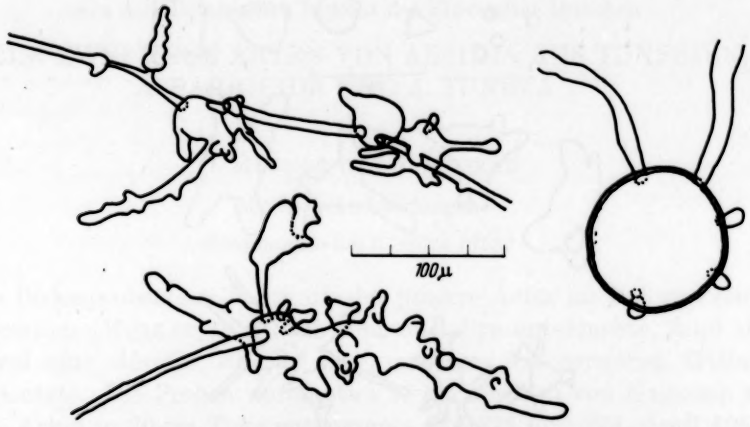


Abb. 3. *Absidia parricida*. Hyphen mit kleinen Blasen und eine große Blasenzelle. (Gezeichnet Muskat)

Abb. 4. *Absidia parricida*. Mycel mit großen und kleinen Blasenzellen, zwei Zygoten. (Photographiert Muskat)

krustenförmige, bräunliche Sklerotien, die im Lauf von 3—4 Monaten einige Millimeter Durchmesser erreichen können. Die Sklerotien bestehen aus eng verflochtenen, dünnen Hyphen mit spärlichen Querwänden und aus großen, bis 70 µ messenden, teils dünn-, teils dickwandigen Blasen (Abb. 6, 7). In unregelmäßiger Verteilung finden sich

auch Zellen, die bei wechselnder Gestalt, spindel-, keulen-, kugelförmig, ihre Wände unregelmäßig verdicken, mitunter bis zum Schwinden des Lumens (Abb. 7 und 8); die dicken Wandteile sind oft bräunlich. Daß

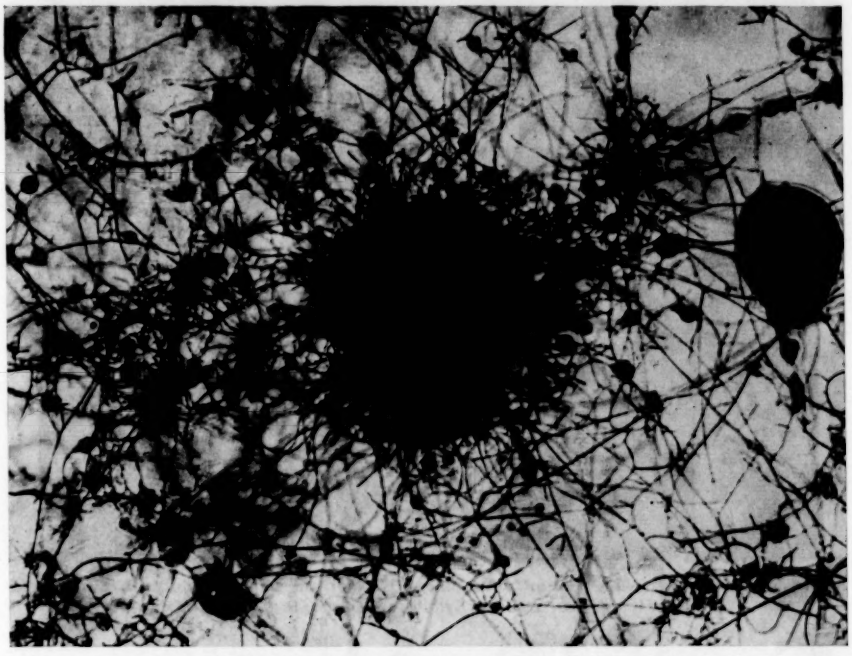


Abb. 5. *Absidia parricida.* Mycel auf Bierwürze-Agar mit vielen Zygoten und einigen Blasenhäufchen. In der Mitte größerer Glomerulus, aus dem zahlreiche dünne Hyphen ausgewachsen sind. (Photographiert MUSKAT)

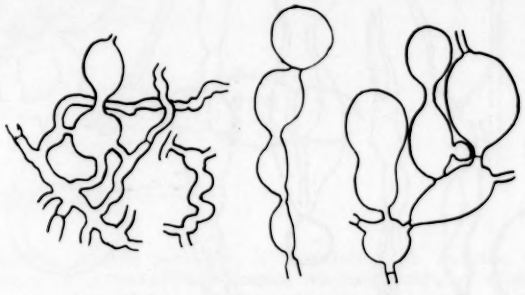


Abb. 6. *Absidia parricida.* Dünne und Blasenhyphen aus einem Sklerotium, 450fach. (Gezeichnet RENNER)

solche sklerosierten Zellen geeignet wären, bei Anhäufung in der Oberfläche dem Sklerotium mechanischen Schutz zu gewähren, ist kaum zu bezweifeln; man müßte die Sklerotien, die auch große Mengen von Zygoten (Abb. 7) einschließen, am natürlichen Standort aufsuchen.

Kuglige Sklerotien von 300—450 μ Durchmesser, mit Calciumoxalat inkrustiert, beschreibt Guéguen (1909) von *Mucor sphaerosporus*. „Le tissue de l'organe

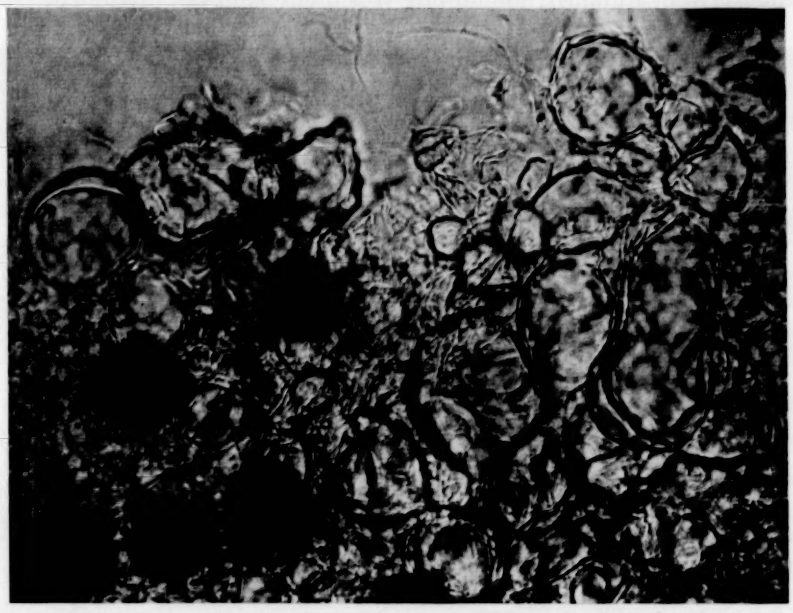


Abb. 7. *Absidia parricida*. Schnitt aus einem Sklerotium mit Fadenmycel, dünn- und dickwandigen Blasenzellen, Zygoten. (Photographiert Renner)

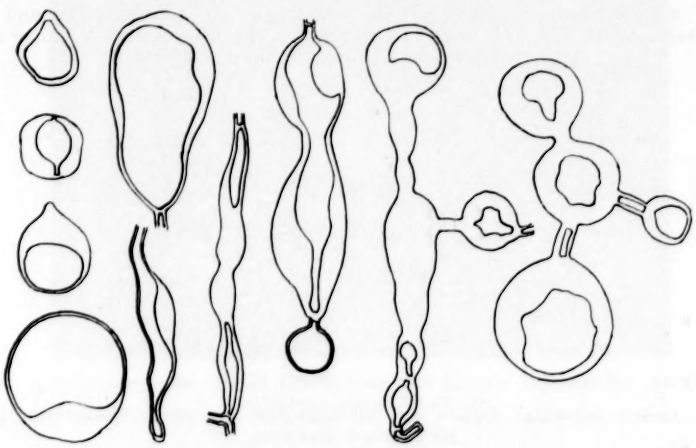


Abb. 8. *Absidia parricida*. Sklerenchymzellen aus einem Sklerotium, 450fach. (Gezeichnet Renner)

consiste en un pseudoparenchyme à éléments de calibre moyen . . . , entremêlés de nombreuses chlamydospores"; Keimung ist nicht beobachtet. Weder von diesen Gebilden, noch von den „véritables tubercules", bis 100 × 60 μ groß, ohne Chlamydo-

sporen, die derselbe Autor (1911) von einer neuen *Mucor*-Art beschreibt, kann man sich ein klares Bild machen, weil der Ort der Publikation eine Illustrierung nicht erlaubt. Mit den Sklerotien unseres Pilzes haben die beiden Differenzierungen keine Ähnlichkeit.

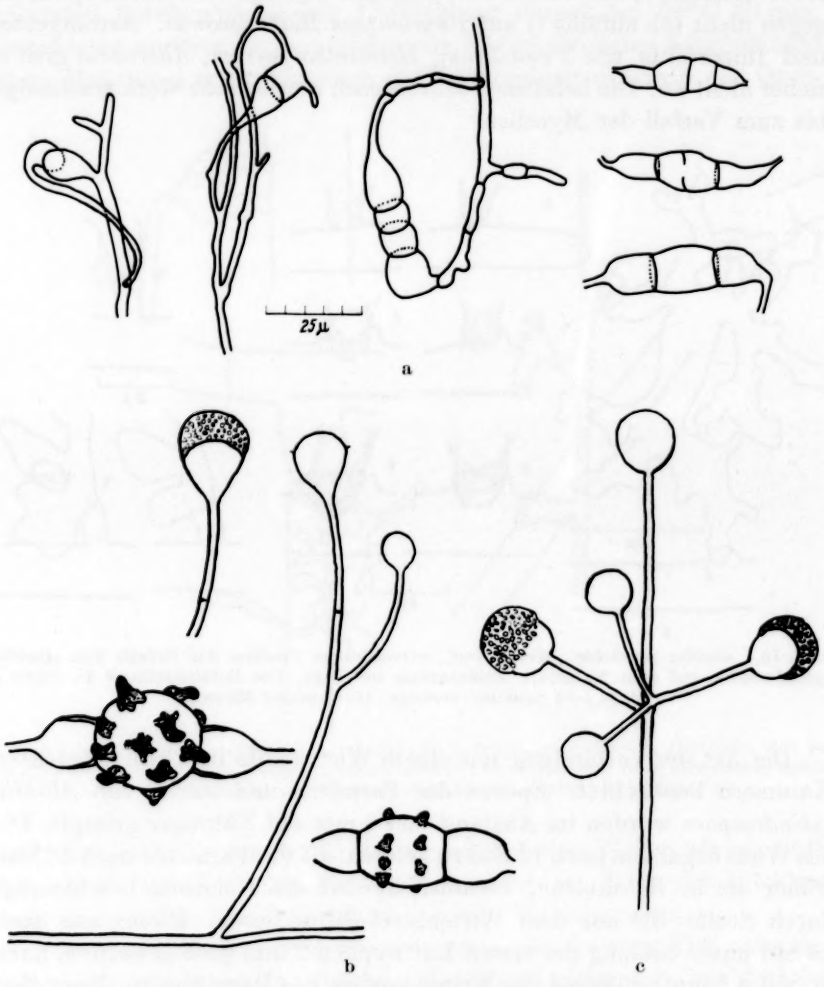


Abb. 9a—c. a und b *Absidia parricida*. a Kopulation, b Zygoten und Sporangien, 625fach, c *A. verticillata*, starker Sporangienträger, 450fach, (Gezeichnet a MUSKAT, b und c RENNER)

Das Mycelium ist auf Bierwürzeagar weiß, sehr feinfilzig, zuletzt recht zäh. Die Sporangien und ebenso die Kopulationsäste und Zygoten, die am monöcischen Mycel in großer Zahl entstehen, haben gleiche Gestalt wie bei parasitischem Wachstum, erreichen aber nicht die gleiche Größe wie dort. Starke Ausläufer fehlen. Abb. 9.

b) Die parasitische Entwicklung

Der Pilz wurde als Parasit auf *Absidia tuneta* (vgl. unten) isoliert. In der Kultur wuchs er ebenso gut auf *Absidia cylindrospora*, *A. spinosa*, *A.* cf. *violacea*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, *Circinella* spec., dagegen nicht (ob zufällig?) auf *Phycomyces Blakesleeanus*. Ascomyceten und Imperfekte wie *Penicillium*, *Helminthosporium*, *Alternaria* griff er sicher nicht an. Die befallenen Mucoraceen werden sehr stark geschädigt, bis zum Verfall der Mycelien.

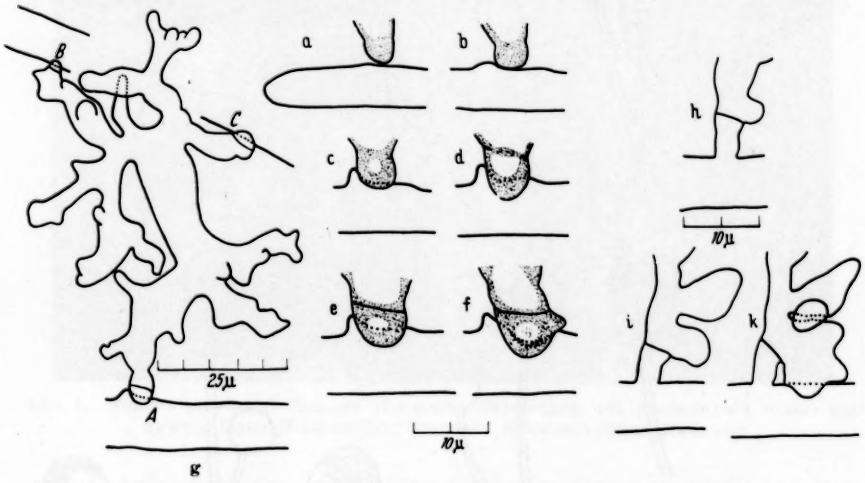


Abb. 10. *Absidia parricida*. Keimmycel, verschiedene Stadien des Befalls von *Absidia cylindrospora* auf dem Substrat. Erläuterung im Text. Die Befallsstelle *A* in Figur g ist in a—f genauer verfolgt. (Gezeichnet Muskat)

Die Art der Verbindung mit einem Wirt wurde in kleinen feuchten Kammern beobachtet. Sporen des Parasiten und solche von *Absidia cylindrospora* wurden im Abstand von 8 mm auf Nähragar geimpft. Die des Wirts begannen nach 19 Std zu keimen, die des Parasiten nach 28 Std, früher als in Reinkultur; vermutlich wird die Keimung beschleunigt durch Stoffe, die aus dem Wirtsmycel diffundieren. Dieses war nach 28 Std unter Bildung der ersten Lufthyphen 3 mm groß geworden, nach 31 Std 4,5 mm, während die Keimmycelien des Parasiten zu dieser Zeit 25 µ maßen. Nach 48 Std erreichte der Wirt einen Durchmesser von 15 mm und kam mit den inzwischen auf etwa 45 µ herangewachsenen, lappig verzweigten Parasitenmycelien zur Berührung (Abb. 10a, g). Schon 3 min danach entsteht an der rasch vorbeiwachsenden Wirtshyphe eine Vorwölbung (Abb. 10b), die in 10 min zu einer buckeligen Auftreibung wird (Abb. 10c). 20 min nach dem ersten Kontakt sammelt sich nahe der Spitze des Parasitenastes, in der Gegend der späteren Querwand, Plasma an (10d), wieder 10 min später ist die Wand eingezogen und

damit eine Schröpfkopfzelle abgegliedert (10e). Nach weiteren 20 min werden die Wände zwischen dem Wirt und dem Schröpfkopf aufgelöst und die beiden Partner treten in plasmatische Verbindung (10f), was sich durch lebhafte Plasmabewegung anzeigt. Der ganze Vorgang von der ersten Berührung bis zur Lochbildung dauert bei 20° C 50 min. Kontakte an anderen Stellen führen zur Bildung weiterer Schröpfköpfe (10g). Manchmal entstehen nach der Lochbildung oberhalb der Quer-

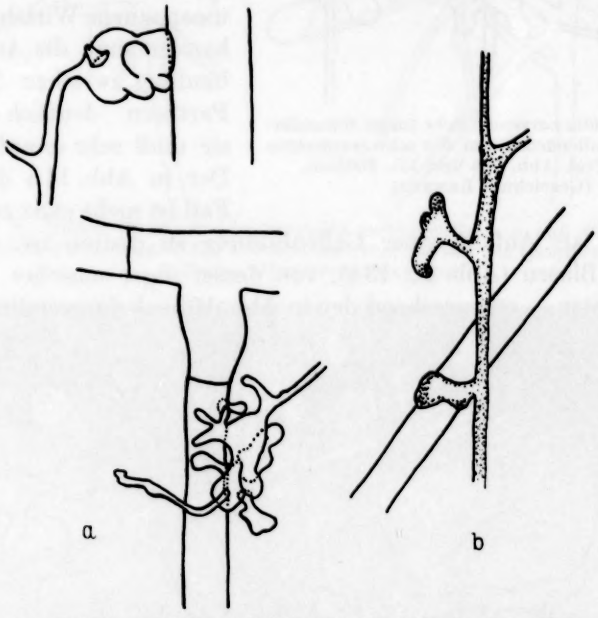


Abb. 11a u. b. *Absidia parricida*. a Lufthyphen (wohl nahe dem Keimmycel), sich an *Absidia cylindrospora* festheftend. b Haustorien (?) an *A. spinosa*, oben abgerissen, unten an entleerter Hyphe des Wirtes. (Gezeichnet a MUSKAT, b RENNER)

wand blasige Aussackungen (Abb. 10h—k); größere Gallen wie am Luftmycel (vgl. unten) wurden hier nicht beobachtet. Nach der Infektion stellt das primäre Mycel des Parasiten sein Wachstum ein.

Über das Verhalten von Keimmycelien, die keinen Wirt gefunden haben, ist oben berichtet. Solche aufrechten Lufthyphen, wie dort beschrieben, bilden die Mycelien im gleichen Alter auch dann, wenn sie auf dem Substrat die Verbindung mit einem Wirt hergestellt haben, und in diesem Fall dienen die Suchhyphen der Infektion des über den Parasiten weggewachsenen Luftmycels. Die Spitze eines Astes, der eine Beute getroffen hat, schwillt bisweilen zu einem Kopf mit lappigen Fortsätzen an (Abb. 11a). Die weitere Entwicklung ist nicht verfolgt.

Das Verhalten der Luftinfektionen kann leider nicht genauer beschrieben werden. Der jüngere Autor hat die bis jetzt dargestellte Unter-

suchung ausgeführt, als er nicht mehr dem Botanischen Institut angehörte, der sehr empfindliche Pilz ging während eines Aufenthalts im Ausland verloren, und der ältere Autor kann nur nach wenigen Glycerinpräparaten mit allem Vorbehalt versuchen, die weiteren Vorgänge zu rekonstruieren. Nirgends wurde, obwohl von dem feinen Parasitenmycel umsponnene Wirtshyphen vorhanden sind, die Art der Verbindung zwischen den beiden Partnern deutlich erkannt; sie muß sehr unauffällig sein. Der in Abb. 11b dargestellte Fall ist nicht ganz zweifelsfrei.

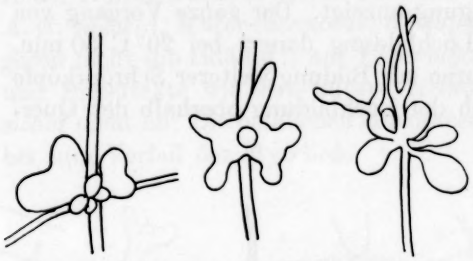


Abb. 12. *Absidia parricida*. Sehr junge Sekundärgallen auf Gallenästen von der schwarzsporigen *Absidia* (vgl. Abb. 14b und 15), 200fach. (Gezeichnet Renner)

Was wohl als Anfang einer Gallenbildung zu deuten ist, sind zarte rundliche Blasen (Abb. 12, 13a), von denen sogar unsicher ist, ob sie dem Parasiten — entsprechend den in Abb. 10h—k dargestellten Bildun-

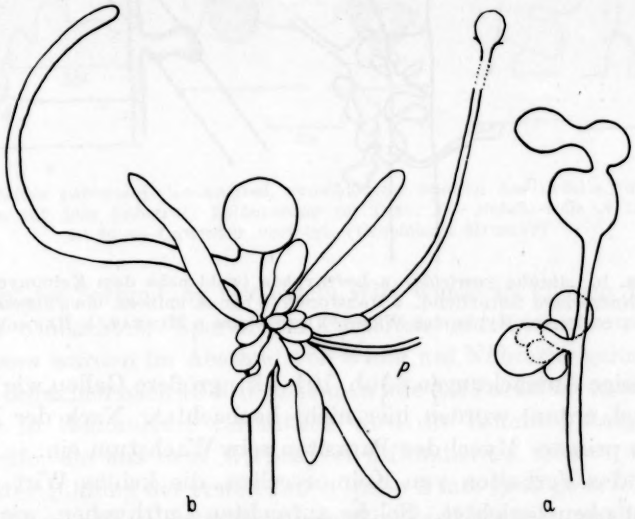


Abb. 13a u. b. *Mucor racemosus* von *Absidia parricida* befallen. a Sporangiumanlage vegetativ ausgewachsen, darunter sehr junge Galle. b Steckengebliebenes Sporangium, der Träger seitwärts ausgewachsen, darunter junge Galle mit Blasen und spindelförmigen Ästen, *P* Parasitenhyphe (?), darüber sehr schwaches Sporangium des *Mucor*, 200fach. (Gezeichnet Renner)

gen — oder dem Wirt zugehören. Später entstehen zwischen und neben den Blasen schlank spindelförmige oder zylindrische Gebilde (Abb. 13b), und in einem Präparat, das Zygoten von *Absidia spinosa* neben solchen von *A. parricida* enthielt, wurden einige sparrig verzweigte Gebilde

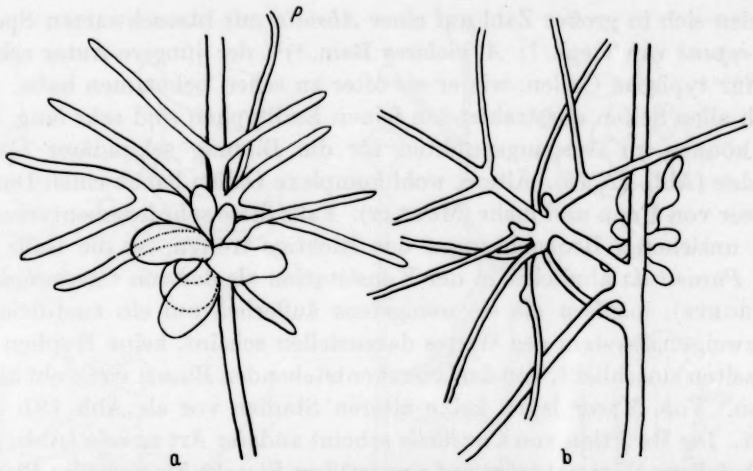


Abb. 14a u. b. Gallen durch *Absidia parricida* hervorgerufen. a auf *Absidia spinosa*, jünger, noch sehr zartwandig, b älter, derber, auf einer *Absidia* mit blauschwarzen Sporen, 200fach. (Gezeichnet RENNER)

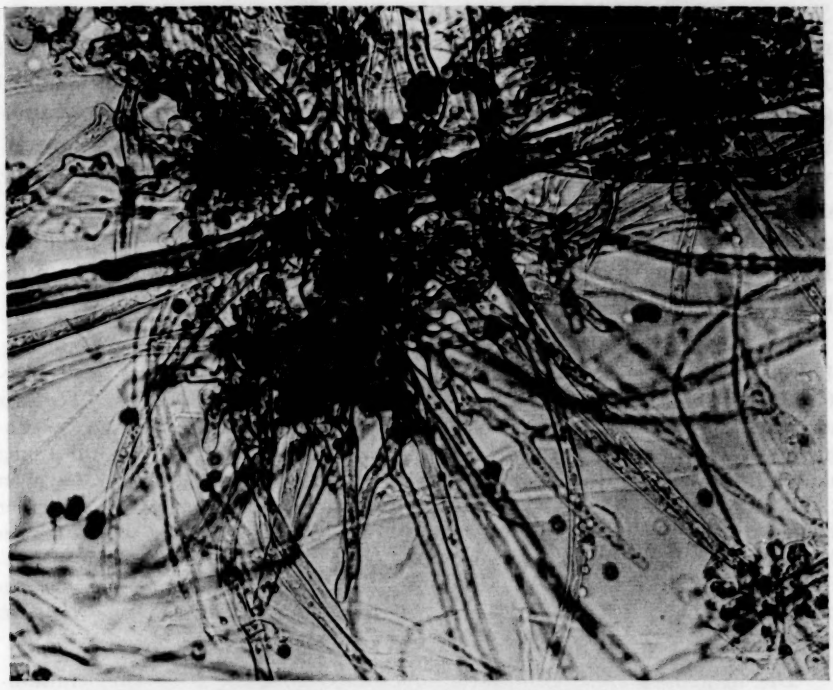


Abb. 15. Hexenbesenähnliche Galle von derselben *Absidia*, rechts unten sehr junge Sekundärgalle. Die dunklen Kügelchen sind Sporen des Wirtes. (Photographiert RENNER)

gefunden, wie Abb. 14a darstellt. Ähnliche, aber auch viel größere, ältere, derbwandige, hexenbesenartig verzweigte Bildungen (Abb. 14b, 15)

fanden sich in großer Zahl auf einer *Absidia* mit blauschwarzen Sporen (*A. repens* van Tiegh. ?; *A. violacea* Bain. ?)[1]; der jüngere Autor erklärt sie für typische Gallen, wie er sie öfter zu sehen bekommen habe. Die nach allen Seiten ausstrahlenden feinen Endhyphen sind sehr lang, und sie können zu Ausgangspunkten für die Bildung sekundärer Gallen werden (Abb. 12, 15). Ältere, wohl komplexe Gallen haben einen Durchmesser von 1 mm und mehr (Muskat). Falls diese sehr fragmentarischen und unsicheren Beobachtungen das Richtige treffen, ist die Galle der von *Parasitella* ähnlicher in der Konstitution als der von *Chaetocladium* (Burgeff), insofern als sie wenigstens äußerlich nur ein modifiziertes Verzweigungssystem des Wirtes darzustellen scheint, keine Hyphen des Parasiten einschließt, von den zuerst entstehenden Blasen vielleicht abgesehen. Von *Mucor* lagen keine älteren Stadien vor als Abb. 13b darstellt. Die Reaktion von *Circinella* scheint anderer Art zu sein (Abb. 16); der befallene Wirtsast trägt auf eine größere Strecke hin verteilte Blasen, deren Wand zuletzt gekörnt ist und mit Calciumoxalat inkrustiert zu sein scheint; ob die sehr starke schraubenförmige Zusammendrehung der Sporangienträger (Abb. 17) auf einer Einwirkung des Schmarotzers beruht, ist unklar. Auf alle Fälle hat man den Eindruck, daß die chemische Beeinflussung des Wirts durch den Parasiten über die — immer unsicher gebliebene — Stelle der Infektion weit hinausreichen kann; andeutungsweise liegt eine derartige Reaktion des Wirtes in den „Emergenzen" vor, die nach Burgeff (1924, Fig. 41) *Chaetocladium* auf *Absidia glauca* erzeugt. Ob gar Kerne vom Schröpfkopf her verschleppt werden? Dem glücklichen Wiederfinder bleibt das Vergnügen vorbehalten, über das Prinzip wie über die Variabilität dieser Gallenbildungen nach dem Vorbild der Untersuchungen von Burgeff Klarheit zu schaffen.

Die Sporangien der *Absidia parricida* (Abb. 18) sind fast kuglig bis birnförmig, 15—30 μ groß, hellgrau, mit leicht zerfließender Wand. Die Apophyse ist trichterförmig, die Columella (Abb. 18a, 9b) halbkuglig bis ziemlich flach, ohne Fortsatz am Scheitel, am Grund höchstens mit leichter Andeutung eines Restes der Sporangienwand. Die farblosen Sporen (Abb. 18b) sind kurz zylindrisch, 2,4—2,8 μ lang und 1,7—1,8 μ breit. Die Sporangienträger auf den gewöhnlichen Lufthyphen (Abb. 18c) sind 90—150, selten bis 200 μ lang, 4,5—5 μ dick, meist einfach, aber bisweilen mit einem Seitenast versehen. An bis 10 mm langen, 4—5 μ dicken Stolonen entsteht nahe dem wurzelnden Ende ein bis 500 μ hoher, am Grund verdickter Sporangienträger (Abb. 18d—f). In einiger Entfernung von dem einzigen oder dem Hauptsporangium findet sich im Träger regelmäßig eine Querwand, in den stärksten Trägern auch eine Wand dicht an der Basis.

Die in großer Zahl gebildeten Zygoten (Abb. 19, 20a) sind dunkelbraun, meist kuglig, seltener kurz zylindrisch, in der Größe sehr variabel, oft 30, selten bis 38 μ groß, warzig, die Warzen ähnlich denen von

[1] Muskat (S. 14) führt 10 Funde von *Absidia* sp. sp. auf, die er nicht bestimmt hat. Eine dieser Nummern ist jetzt als *A. tuneta* bezeichnet.

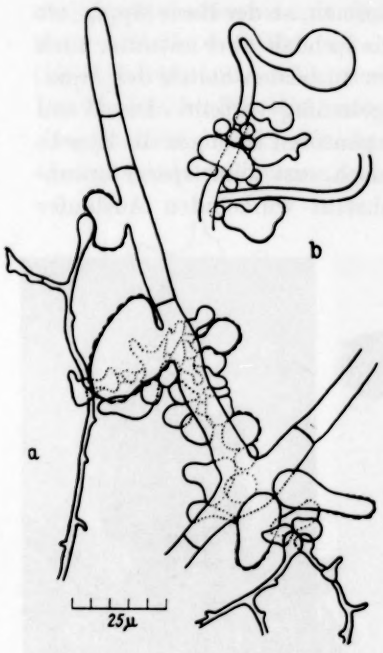


Abb. 16a u. b. Junge Sporangienträger von *Circinella* spec. mit Gallblasen. Die dünnen Hyphen sind die des Parasiten. (Gezeichnet a MUSKAT, b RENNER)

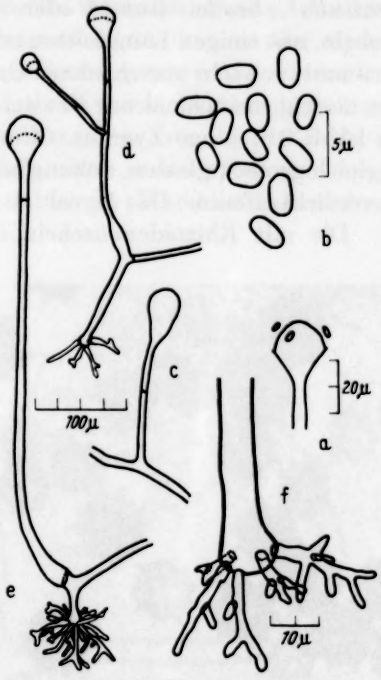
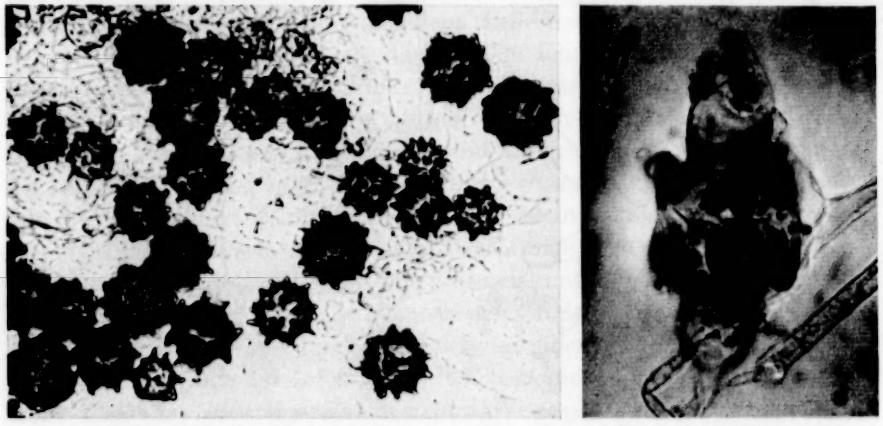


Abb. 18a—f. *Absidia parricida*, auf *Absidia cylindrospora* parasitierend. a Entleertes Sporangium, b Sporen, c schwaches Sporangium jung, d und e Sporangienträger an wurzelnden Ausläufern, f Rhizoidenbüschel. (Gezeichnet MUSKAT)

Abb. 17. *Circinella* spec., junge Sporangienträger schneckenförmig eingerollt. Zygoten von *Absidia parricida*. (Photographiert RENNER)

Parasitella[1], braun, stumpf oder spitz kegelförmig, bisweilen wahre Stacheln, mit einigen Längsleisten oder -kämmen, an der Basis lappig, oft gekrümmt, von sehr verschiedener Größe, bis 9μ hoch, aber mitunter auch ganz niedrig, manchmal nur in zwei Reihen zu beiden Seiten des Äquators (Abb. 9b, junge Zygote), öfter unregelmäßig verteilt. Die Wand der gleich großen, glatten, anhanglosen Suspensoren ist gegen die Zygote hin verdickt, braun. Das Mycel ist monöcisch, erst weiß, später bräunlich. Die mit Rhizoidenbüscheln im Substrat wurzelnden Ausläufer



a b

Abb. 19a u. b. *Absidia parricida*, Zygoten. a Häufige Form mit vielen spitzen Warzen, b wenige stumpfe niedergedrückte Warzen. (Photographiert a Renner, b Muskat)

(Muskat, Abb. 18) erweisen das parasitierende Mycel als nicht durchaus epiphytisch lebend.

c) Zur Nomenklatur

Zycha (1935, S. 130) beschreibt eine auf *Mucor* parasitierende *Absidia*, monöcisch, mit ähnlichen Zygoten wie die unsrige (Abb. 20b). Er identifiziert sie nach der Beschreibung bei Lendner (1908, S. 130) mit *Absidia verticillata* Lendner = *Mycocladus verticillatus* Beauverie, aber sie hat mit den Bildern von Beauverie (1900), die er nicht gekannt hat, keine Ähnlichkeit; wir geben zwei der wichtigsten in unserer Abb. 21

[1] Herr Prof. Burgeff war so freundlich, mich zu seinen Zeichnungen (1924, Fig. 34 u. 43) wissen zu lassen: „Die Längsstreifung der Stacheln . . . auf meinen Bildern . . . war nur ein Mittel, die allmählich abnehmende Bräunung der Warzen vom Gipfel nach der Basis anzudeuten. Trotzdem beachten Sie, daß von jeder Warze mehrere Sektoren herablaufen, die gegeneinander abgesetzt sind." Eine gewisse Leistenbildung scheint also auch hier nicht zu fehlen. Die Basalplatten der Warzen grenzen als eckige Schilder aneinander, anders als bei unserer *Absidia*. Ein unmittelbarer Vergleich war nicht möglich, weil das Würzburger Material verlorengegangen ist.

wieder. Der Zychasche Pilz wird *Absidia verticillata* Zycha (non Lendner) heißen müssen; mit *Mycocladus verticillatus* kommt der Speciesname nicht in Konflikt, solange diese Gattung, wie es bei FITZPATRICK (1930, S. 245) und bei NAUMOV (1939, S. 81) geschieht, beibehalten wird. Der Zychasche Pilz lebt noch in der Sammlung von Baarn. Er ist mit *Absidia parricida* sicher nicht identisch, denn er hat etwas größere (bis 45 μ messende) hellbraune Zygoten mit dünnerer Wand und zahlreicheren,

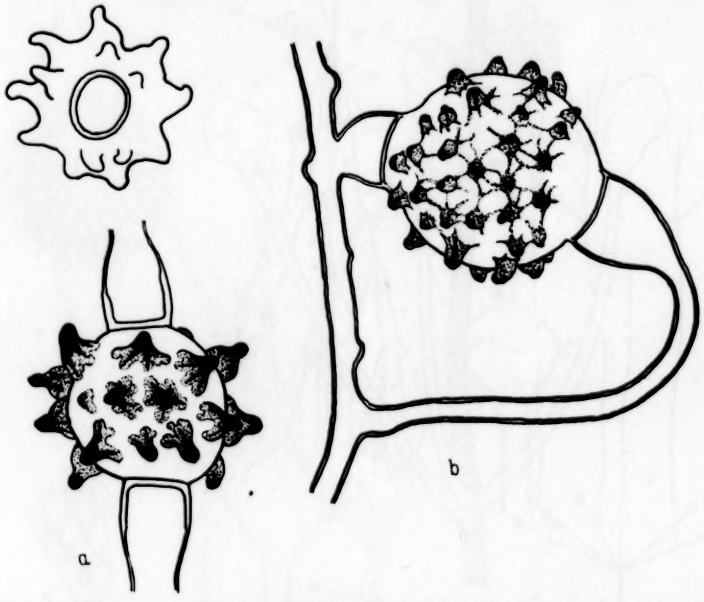


Abb. 20a u. b. Zygoten. a *Absidia parricida* auf *Absidia spinosa* parasitierend, recht große Zygote mit Suspensoren, darüber Zygote von einem Pol her gesehen, b *A. verticillata* Zycha aus der Sammlung von Baarn, auf Biomalzagar, sehr große Zygote. 700fach. (Gezeichnet RENNER)

viel kürzeren, am Grund ausgezackten Warzen, die bei dichtem Stand durch dünne hellbraune Leisten verbunden sind (Abb. 20b; das Bild bei ZYCHA, S. 126, gibt die Gestalt einer kleineren Zygote gut wieder)[1], Suspensoren ohne Wandverdickung, und Sporangien mit kugliger Columella (Abb. 9c). Die wirtelige Verzweigung der Sporangienträger, die ZYCHA (S. 120) darstellt, ist auch in den Kulturen mitunter ausgebildet. In seinem jetzigen Zustand greift der Pilz weder *Absidia cylindrospora* noch *Mucor racemosus* an[2]. Aber er wächst viel langsamer als diese. Daß er ursprünglich parasitisch war, ist demnach wohl glaubhaft

[1] Auch bei den sehr zahlreichen feinen Warzen auf den Zygoten der *Absidia spinosa* erhebt sich ein kurzes Spitzchen aus einer gelappten Platte.

[2] Herr Dr. BURSCHOTEN in Baarn hatte die Freundlichkeit, die Probe ebenfalls zu machen, ebenfalls ohne Erfolg.

— die Verbindung mit dem Wirt hat der Entdecker seinerzeit nicht festgestellt —, und vielleicht ist in Baarn ein Klon herausgezüchtet worden, der verhältnismäßig gut als Saprophyt gedeiht, aber nicht mehr zu parasitieren vermag. Auf Biomalzagar bildet er jetzt sehr früh zahlreiche Sporangien, die Zygoten erscheinen spät und sind sehr spärlich; auch hierin unterscheidet er sich von *A. parricida* (vgl. oben).

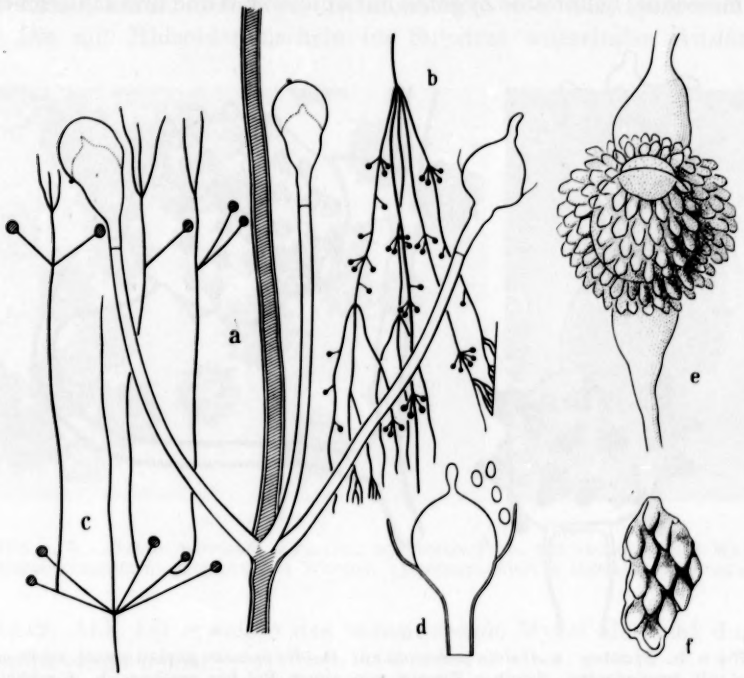


Abb. 21. *Mycocladus verticillatus* Beauv. nach Beauverie, Fig. 39 und 49. Daß die Warzen der Zygote wirklich alle nach einer Seite niedergedrückt sind, ist bei der Kugelsymmetrie wenig wahrscheinlich

Den Pilz von Kairouan hat der Finder *Absidia parasitica* genannt (Muskat, S. 15). Wir haben dieses *nomen nudum* jetzt durch *A. parricida*[1] ersetzt.

Man kann sich fragen, ob die Arten ohne Dornen an den Suspensoren der Zygoten in derselben Untergattung von *Absidia* belassen werden sollen wie die typischen Verwandten von *A. spinosa*. Wenn nicht, könnte man das Subgenus *Anacantha* nennen. Aber das geht die Mycologen an.

II. Absidia tuneta

Die als Wirt der *A. parricida* isolierte Form ließ sich nach den Beschreibungen mit keiner der bei Zycha und Naumov aufgeführten Arten identifizieren. Am nächsten kommt *A. (Tieghemella) repens* van Tieghem,

[1] Im weiteren Sinn verstanden, Verwandtenmörder.

aber der tunesische Pilz hat farblose Sporen und anders gestaltete Sporangien und Columellen als VAN TIEGHEM abbildet.

Beschreibung. Rasen bis 25 mm hoch, erst weiß, dann mausgrau. Ausläufer bis 2 cm lang, 18—25 μ dick, zuerst farblos, dann bräunlich, im Substrat mit Rhizoiden wurzelnd. Sporangienträger farblos, einzeln oder zu 2—5, bis 250 μ hoch, oft verzweigt, 6—7,5 μ dick. Sporangien birnförmig, trocken graubraun, matt,

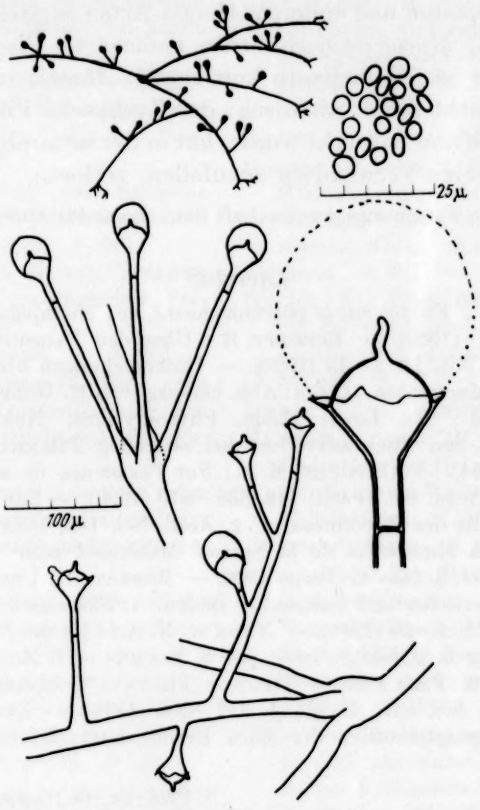


Abb. 22. *Absidia tuneta*, auf Bierwürzeagar. Habitus, Sporangien, Sporen. (Gezeichnet MUSKAT)

25—35 (—45) μ groß, mit zerfließender Wand, die einen Basalkragen hinterläßt. Columella halbkuglig, einer breiten bräunlichen Apophyse aufgesetzt, mit spitzem, 6—8 (—12) μ langem Scheitelfortsatz. Unter der Apophyse im Träger stets eine Querwand. Sporen farblos, kuglig, 3—5 μ im Durchmesser, oder länglich, 3—4 × 4—5 μ groß. Gemmen wurden nicht beobachtet. Zygoten nicht bekannt; wohl diöcisch. — Abb. 22. — Der Pilz ist von FRANK (1954, S. 333) als *Absidia* sp. 274 auf seinen Stickstoffhaushalt untersucht worden.

Zusammenfassung

Auf *Absidia (Tieghemella) tuneta* spec. nova wurde als Parasit *Absidia (Tieghemella) parricida* spec. nova gefunden, die auch andere

Mucoraceen zu befallen vermag. Sie wächst auf Bierwürzeagar sehr langsam und schwach, wird als Parasit, wobei sie mit Ausläufern stellenweise im Substrat wurzelt, viel kräftiger, ist monöcisch und bildet zahlreiche Zygoten mit langen, spitzen, braunen Warzen. Die Schröpfkopfverbindung des Keimmycels mit Hyphen des Wirts ist genau beobachtet, über die Infektion des Luftmycels ist fast nichts bekannt. Auf *Absidia (Tieghemella) spinosa* und anderen *Absidia*-Arten entstehen hexenbesenähnliche Gallen. *Mucor* reagiert ebenso, andersartig *Circinella*. Der Pilz ist verloren. Er ist der in Baarn kultivierten *Absidia verticillata* Zycha ähnlich, aber nicht damit identisch; der Zychasche Pilz, der ebenfalls als Parasit auf *Mucor* entdeckt wurde, hat in der saprophytischen Kultur die Fähigkeit, seine Verwandten anzufallen, verloren.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Unterstützung.

Literatur

Beauverie, J.: Études sur le polymorphisme des champignons. Ann. Univ. Lyon **1**, 162—180 (1900). — Burgeff, H.: Über den Parasitismus des Chaetocladium usw. Z. Bot. **12**, 1—35 (1920). — Untersuchungen über Sexualität und Parasitismus bei Mucorineen. 1. Bot. Abh. herausg. von K. Goebel, H. 4, 1924. — Fitzpatrick, H. M.: The Lower Fungi, Phycomycetes. New York 1930. — Frank, H.: Über den Stickstoffverlust bei alternden Pflanzen. Planta (Berl.) **44**, 319—340 (1954). — Guéguen, M. F.: Sur l'existence de sclérotes chez une Mucorinée. C. r. Acad. Sci. (Paris) **149**, 868—870 (1909). — Sur un nouvel organe differencié du thalle des Mucorinées. C. r. Acad. Sci. **152**, 1684—1685 (1911). — Lendner, A.: Les Mucorinées de la Suisse. Matériaux pour la Flore Cryptogamique Suisse, vol. **3**, fasc. 1. Berne 1908. — Muskat, J.: Untersuchungen über Schimmelpilze bayrischer und tunesischer Böden. 1. Floristisch-ökologischer Teil. Arch. Mikrobiol. **22**, 1—20 (1955). — Naumov, N. A.: Clés des Mucorinées (Mucorales). Traduit sur la 2. édition russe par S. Buchet et I. Mouraviev. Encycl. Mycologique, vol. 9. Paris 1939. — Tieghem, Ph. van: Troisième mémoire sur les Mucorinées. Ann. Sci. nat., II. sér. **4**, 312—398 (1876). — Zycha, H.: Pilze, II. Mucorineae. Kryptogamenflora der Mark Brandenburg, Bd. 6a. Leipzig 1935.

Prof. Dr. O. Renner,
Botanisches Institut der Universität München,
München 19, Menzingerstr. 67

Berichtigung

zur Arbeit Linser, H., O. Kiermayer und R. Jarosch „Zur Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. II. Formbildende Wirkungen verschiedener Stoffe bei Trifolium pratense", diese Zeitschrift, Bd. 50, S. 238—249 (1957).

Auf S. 246, in der Tabelle 6, Spalte „Vervielfachungsfaktor" muß es 1,0 (statt 0,0) heißen.

Autorenverzeichnis des 51. Bandes

Asprey, G. F. s. Palmer, J. H. S. 757, 770

Bauer, A., Die Konstanz des Chlorophyllgehaltes bei Laubblättern im Laufe eines Tages. S. 84

Bergmann, L., Der Einfluß von Gibberellin auf das Wachstum von Gewebekulturen des Callus von Daucus carota. S. 70

Bode, H. R., Beiträge zur Kenntnis allelopathischer Erscheinungen bei einigen Juglandaceen. S. 440

Brauner, L., und A. Hager, Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption. I. S. 115

Bünsow, R. s. Harder, R. S. 201

Čatský, J. und B. Slavík, Eine neue Anwendung der CO_2-Bestimmung nach Kauko zu Assimilationsmessungen. S. 63

Chrometzka, P., Untersuchungen über den Wuchsstoff-Oxydase-Haushalt der Oenotheren-Mutanten helix und nanella. S. 321

Cleland, R. E., The evolution of the North American oenotheras of the "biennis" group. S. 378

Czaja, A. Th., Untersuchungen über die submikroskopische Struktur der Zellwände von Parenchymzellen in Stengelorganen und Wurzeln. S. 329

Czeika, G., Über das spontane Auftreten von Mitosen und inäqualen Cytokinesen in der endopolyploiden Epidermis von Portulaca grandiflora. S. 566

Falk, H., Ein Beitrag zur Methode der quantitativen Chlorophyllbestimmung. S. 49

Frey-Wyssling, A., und E. Kreutzer, Die submikroskopische Entwicklung der Chromoplasten in den Blüten von Ranunculus repens L. S. 104

Geitler, L., Selektive Paarung und gegenseitige Beeinflussung der Kopulationspartner bei der Diatomee Cocconeis. S. 584

Grill, R., Blattentwicklung von Trichocolea tomentella (Ehrh.) Dum. S. 673

Guttenberg, H. v., und R. Müller-Schröder, Untersuchungen über die Entwicklung des Embryos und der Keimpflanze von Nuphar luteum Smith. S. 481

Hager, A. s. Brauner, L. S. 115

Harder, R., und R. Bünsow, Über die Wirkung von Gibberellin auf Entwicklung und Blütenbildung der Kurztagpflanze Kalanchoë blossfeldiana. S. 201

Haupt, W., Über den Primärvorgang bei der polarisierenden Wirkung des Lichtes auf keimende Equisetum-Sporen. S. 74

Heber, U. s. Ullrich, H. S. 399

Huber, B., und W. Merz, Über die Bedeutung des Holztüpfelverschlusses für die axiale Wasserleitfähigkeit von Nadelhölzern. I. Mitteilung. Grunderscheinungen. S. 645

— — Über die Bedeutung des Hoftüpfelverschlusses für die axiale Wasserleitfähigkeit von Nadelhölzern. II. Mitteilung. Vergleichende Untersuchungen und praktische Anwendungen. S. 660

Kandler, O., Untersuchungen über den Einfluß von Substratzufuhr auf den Abbau zelleigenen Materials bei C^{14}-markierter Chlorella. S. 167

— Zur Frage einer aeroben Gärung in Wurzelmeristemen. Bemerkung zur Arbeit von A. Betz: Planta **50**, 122 (1957). Kurze Mitteilung. S. 544

Kating, H., Über die Beziehungen zwischen γ-Aminobuttersäure und Glutaminsäure bei Chlorella vulgaris var. viridis. S. 635

Könitz, W., Blühhemmung bei Kurztagpflanzen durch Hellrot- und Dunkelrotlicht in der photo- und skotophilen Phase. S. 1

Kreutzer, E. s. Frey-Wyssling, A. S. 104

Laibach, F., Über den Artbastard Arabidopsis suecica (Fr.) Norrl. × A. thaliana (L.) Heynh. und die Beziehungen zwischen den Gattungen Arabidopsis Heynh. und Cardaminopsis (C. A. Meyer) Hay. S. 148

Landmann, W., Vergleichende Untersuchungen an meiotischen und endomitotischen Chromomeren von Gentiana cruciata L. Kurze Mitteilung. S. 99

— s. Steffen, K. S. 30

Lieth, H., Grenzen und Anwendungsmöglichkeiten der colorimetrischen CO_2-Bestimmung. S. 705

Merz, W. s. Huber, B. S. 645, 660

Michaelis, P., Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. I. Teil. S. 600

— Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. II. Teil. S. 722

Müller-Schröder, R. s. Guttenberg, H. v. S. 481

Muskat, J. s. Renner, O. S. 786

Palmer, J. H., and G. F. Asprey, Studies in the nyctinastic movement of the leaf pinnae of Samanea saman (Jacq.) Merrill. I. A general description of the effect of light on the nyctinastic rhythm. S. 757

— — Studies in the nyctinastic movement of the leaf pinnae of Samanea saman (Jacq.) Merrill. II. The behaviour of upper and lower half-pulvini. S. 770

Pisek, A., und E. Winkler, Assimilationsvermögen und Respiration der Fichte (Picea excelsa Link) in verschiedener Höhenlage und der Zirbe (Pinus cembra L.) an der alpinen Waldgrenze. S. 518

Poelt, J., Über parasitische Flechten. II. S. 288

Rackow, B., Ist die pflanzliche Photosynthese eine Lichtreaktion mit rückläufiger Dunkelreaktion? Ein Versuch, manometrische Licht-Dunkel-Kurven von Chlorella zu erklären. S. 575

Renner, O., Widmung an, S. 103

Renner, O., und J. Muskat, Über zwei neue Arten von Absidia aus Tunesien, A. parricida und A. tuneta. S. 786

Reznik, H., Vergleich einer weißen Mutante von Neottia nidus-avis (L.) L. C. Rich. mit der braunen Normalform. Eine physiologisch-anatomische Studie. S. 694

Schaefer, G., Über Veränderungen des mechanischen und biologischen Kontaktes von Plasma und Zellwand in subplasmolytischen Konzentrationen von Anelektrolyten. S. 414

Schötz, F., Beobachtungen zur Plastidenkonkurrenz bei Oenothera und Beiträge zum Problem der Plastidenvererbung. S. 173

Schwemmle, J., Über Kreuzungen mit verschiedenen Formen der Oenothera odorata bei Früh- und Spätbestäubung. S. 223

— Über Kreuzungen mit verschiedenen Formen der Oenothera odorata bei Früh- und Spätbestäubung. II. S. 249

Slavík, B. s. Čatský, J. S. 63

Steffen, K., und W. Landmann, Chondriosomen-, Sphärosomen- und Proplastidenzahlen in Beziehung zu den Differenzierungsvorgängen bei der Antherenentwicklung. S. 30

Thielke, Ch., Studien zur Entwicklungsphysiologie von Aspergillus. I. Sterigmenproliferation bei Aspergillus repens. S. 308

Ullrich, H., und U. Heber, Über das Denaturieren pflanzlicher Eiweiße durch Ausfrieren und seine Verhinderung. Ein Beitrag zur Klärung der Frostresistenz bei Pflanzen. S. 399

Winkler, E. s. Pisek, A. S. 518

Wolf, J., Beitrag zur Kenntnis der organischen Säuren der Süßkirsche und ihrer Veränderungen im Verlauf der Fruchtentwicklung. S. 547

Ziegler, H., Über die Atmung und den Stofftransport in den isolierten Leitbündeln der Blattstiele von Heracleum mantegazzianum Somm. et Lev. S. 186

Zimmermann, W., Wie der Generationswechsel der Archegoniaten und der Phanerogamen entstanden ist. S. 511